



Official Publication of
The Afyon Kocatepe University
Faculty of Veterinary Medicine

K o c a t e p e Veterinary Journal

2017 September, 10 : 3



ISSN: 1308-1594
e-ISSN: 2147-6853

<http://www.kvj.aku.edu.tr>

ADVISORY BOARDS

Publisher

Prof. Dr. Erkan KARADAŞ
Dean
On behalf of Afyon Kocatepe University
Faculty of Veterinary Medicine
Afyonkarahisar - TURKEY

Editor in Chief

Prof. Dr. Esmâ KOZAN

Associate Editors

Assoc. Prof. Dr. Musa KORKMAZ
Assist. Prof. Dr. Recep KARA

Organising Committee

Assoc. Prof. Dr. Mine DOSAY AKBULUT
Assoc. Prof. Dr. C. Çağrı ÇINGİ
Assoc. Prof. Dr. İbrahim KILIÇ
Assist. Prof. Dr. Murat TANDOĞAN
Assist. Prof. Dr. Ulaş ACARÖZ

*Kocatepe Veterinary Journal is
International an Peer-Reviewed Journal
and published four times a year.*

*Kocatepe Veterinary Journal;
indexed in TUBİTAK-ULAKBİM TR-Dizin
Journal Index, Academic Index,
Turkey Citation Index, SIS (Scientific Indexing
Services), Google Scholar*

Addressed:

*Kocatepe Veterinary Journal,
Afyon Kocatepe University,
Faculty of Veterinary Medicine,
03200, Afyonkarahisar, TURKEY.*

*Tel: +90 272 214 9309
Fax: +90 272 214 9309
E-mail: kvj@aku.edu.tr*

www.kvj.aku.edu.tr

- Prof. Dr. Arif Altıntaş
Prof. Dr. Atilla Şimşek
Prof. Dr. Cevdet Uğuz
Prof. Dr. Christian Stanek
Prof. Dr. Endre Szuck
Prof. Dr. Giacomo Rossi
Prof. Dr. Yavuz O. Birdane
Prof. Dr. İbrahim Demirkan
Prof. Dr. İlhami Çelik
Prof. Dr. İsmail Bayram
Prof. Dr. Jaroslaw Calka
Prof. Dr. Jerzy J Jaroszewski
Prof. Dr. Jerzy Kalczyk
Prof. Dr. Abdullah Kaya
Prof. Dr. M Hewicker-Trautwein
Prof. Dr. Marco Bagliacca
Prof. Dr. Martin Woodward
Prof. Dr. Mustafa Alişarlı
Prof. Dr. Nalan Bayşu Sözbilir
Prof. Dr. Recep Aslan
Prof. Dr. Seyfullah Haliloğlu
Prof. Dr. Slawomir Zdunczyk
Prof. Dr. Tomasz Janowski
Prof. Dr. Yahya Kuyucuoğlu
Prof. Dr. Zafer Karaer
Prof. Dr. Zehra Bozkurt
Prof. Dr. Zheng-Wei Yang
Prof. Dr. İbrahim Taşal
Prof. Dr. Şule Kaya
Assoc. Prof. Dr. Aysun Demirkan
Assoc. Prof. Dr. Fatih M. Birdane
Assoc. Prof. Dr. Süleyman Aypak
Assoc. Prof. Dr. Hasan Çiçek
Assoc. Prof. Dr. Korhan Altunbaş
Assoc. Prof. Dr. Oktay Yılmaz
Assoc. Prof. Dr. İbrahim Kılıç
Assoc. Prof. Dr. Zeki Gürler
Assist. Prof. Dr. M. Fatih Bozkurt
Dr. Abdulgader Dhawi Alfitouri
Dr. Ali Mobeshari
Dr. Csiszter Ludovic
Dr. Eva Sossidou
Dr. Fahad Al-Hizab
Dr. Fenghua Chen
Dr. Richard D. Murray
Ankara University -Turkey
Selçuk University-Turkey
Afyon Kocatepe University-Turkey
University of Veterinary Medicine - Austria
Szent István University - Hungary
University of Camerino - Italy
Afyon Kocatepe University-Turkey
Afyon Kocatepe University-Turkey
Selçuk University-Turkey
Afyon Kocatepe University-Turkey
University of Warmia and Mazury in Olsztyn - Poland
University of Warmia and Mazury in Olsztyn - Poland
University of Warmia and Mazury in Olsztyn - Poland
Selçuk University-Turkey
University of Veterinary Medicine Hannover - Germany
University of Pisa - Italy
Veterinary Laboratories Agency - England
Öndokuz Mayıs University-Turkey
Afyon Kocatepe University-Turkey
Afyon Kocatepe University-Turkey
Selçuk University-Turkey
University of Warmia and Mazury in Olsztyn - Poland
University of Warmia and Mazury in Olsztyn - Poland
Afyon Kocatepe University-Turkey
Ankara University-Turkey
Afyon Kocatepe University-Turkey
North Sichuan Medical College - China
Mehmet Akif Ersoy University-Turkey
Mehmet Akif Ersoy University-Turkey
Afyon Kocatepe University-Turkey
Afyon Kocatepe University-Turkey
Adnan Menderes University-Turkey
Afyon Kocatepe University-Turkey
Afyon Kocatepe University-Turkey
Afyon Kocatepe University-Turkey
Afyon Kocatepe University-Turkey
Afyon Kocatepe University-Turkey
Al Fateh University - Libya
University of Nottingham - England
Banat University of Agri Sci & Vet Med - Romania
NAGREF, Veterinary Research Institute – Greece
King Faisal University – Saudi Arabia
University of Aarhus - Denmark
Liverpool University - England

RESEARCH ARTICLES

- 129-133 **Niğde Yöresinde Bildiricilerde (Coturnix Japonica) Toxoplasma Gondii'nin Seroprevalansı**
(Seroprevalence of Toxoplasma Gondii in Quails (Coturnix Japonica) in Niğde Province, Turkey)
Selçuk Kılıç, Mustafa Karatepe, Cahit Babür, Bilge Karatepe
- 134-141 **Kültür Levrek (D. labrax) Balıklarından İzole Edilen Vibrio anguillarum İzolatlarının Karakterizasyonu**
(Characterization of Vibrio anguillarum Isolates Recovered From Diseased Cultured European Sea Bass (D. Labrax))
Tülay Akaylı, Mehmet Durna
- 142-151 **Etçi Piliçlerde Damızlık Yaşı ve Erken Dönem Enerji Kısıtlamasının Mide - Bağırsak Kanalı Gelişimine Etkileri**
(Effects of Breeder Age and Early Feed Energy Restriction on Development of Gastrointestinal Tract in Broilers)
Evren Erdem
- 152-157 **Deve Kuşlarından İzole Edilen İshal Etkenleri**
(Isolation of Agents of Diarrhea in Ostriches)
A. Ebru Borum
- 158-163 **Oğlaklarda Giardiazis Kontrolüne Yönelik Oral Klinoptilolit Uygulaması**
(Application of Oral Clinoptilolite Intended for Prevention of Giardiasis in Goat Kids)
Deniz Aliç Ural, Hasan Erdoğan, Adnan Ayan, Songül Toplu
- 164-171 **Abaza Keçilerinde Progesteron Destekli Östrus Senkronizasyonunun Bazı Reprodüktif Parametrelere Etkileri**
(Effects of the Progesterone-Based Estrus Synchronization on Some Reproductive Parameters in Abaza Goats)
Mushap Kuru, Buket Boğa Kuru, Recai Kulaksız, Umut Çağın Arı, Hasan Oral
- 172-179 **Ratlarda Gentamisin İle İndüklenmiş Oksidatif Streste Borun Muhtemel Koruyucu Etkisinin Dokularda Araştırılması**
(Potential Protective Effect of Boron Against Gentamicin-Induced Oxidative Stress on Rat Tissues)
İsmail Küçükçakır, Hasan Hüseyin Demirel, Damla Arslan-Acaröz, Sinan İnce, Abdullah Eryavuz
- 180-186 **Amoksisilin Klavulanik Asit, Amoksisilin Klavulanik Asit+Vitamin Uygulamasının Ratların Böbrek ve Karaciğer Dokularındaki Malondialdehit ve Antioksidan Düzeylerine Etkisi**
(The Effects of Amoxicillin Clavulanic Acid, Amoxicillin Clavulanic Acid + Vitamin Administration on Malondialdehyde and Antioxidant Levels in Kidney and Liver Tissues of the Rats)
Emine Altın, Ali Ertekin
- 187-195 **Kısa Süreli Saklanan Epididimal Anadolu Mandası Spermına İlave Edilen Karnosik Asitin Etkisi**
(Effect of Carnosic acid on the Short Term Storage Anatolian Buffalo Epididymal Sperm)
Deniz Yeni, Fatih Avdatek
- 196-203 **Afyonkarahisar Karamık Gölü'ndeki Turna Balıkları'nın (Esox lucius Linnaeus, 1758) Bağırsak Helmint Faunası Üzerine Bir Araştırma**
(An Investigation on Intestinal Helminth Fauna of Pike (Esox lucius Linnaeus, 1758) from Lake Karamık, Afyonkarahisar)
Ece Akkent, Mehmet Oğuz Öztürk

REVIEWS

- 204-212 **21. Yüzyılda Hekimlik Eğitimi: Sanal Gerçeklik, Artırılmış Gerçeklik, Hologram**
(Medical Education in the 21st Century: Virtual Reality, Augmented Reality and Hologram)
Recep Aslan, Saffet Erdoğan
- 213-225 **Bütirik Asit: Yapısı, Özellikleri ve Sağlık Üzerine Etkileri**
(Butyric Acid: Structure, Properties and Effects on Health)
Abdullah Çağlar, Oktay Tomar, Teslime Ekiz

CASE REPORTS

- 226-230 **A Case of Dispharynx nasuta (Rudolphi, 1819) In a Long-eared Owl (Asio otus)**
(Kulaklı Orman Baykuşunda (Asio otus) Dispharynx nasuta (Rudolphi, 1819) Olgusu)
Mahmut Sinan Erez, Mehmet Fatih Bozkurt, Mustafa Volkan Yaprakçı, Ahmet Göksu, Esmâ Kozan
- 231-234 **Fatal Outcome of Retained Surgical Sponge (Gauzoma) in A Dog**
(Bir Köpekte Unutulmuş Cerrahi Spançın (Gauzoma) Ölümçül Sonucu)
Ceren Dinler, G. Emek Tuna, Rahime Yaygingül, S. Serap Birincioglu, Huseyin Voyvoda

Niğde Yöresinde Bildircinlarda (*Coturnix Coturnix Japonica*) *Toxoplasma Gondii*'nin Seroprevalansı[#]

Selçuk KILIÇ¹, Mustafa KARATEPE², Cahit BABÜR¹, Bilge KARATEPE^{2*}

¹ Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezî Başkanlığı, Sıhhiye/ ANKARA
² Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Bor Meslek Yüksekokulu, Bor/ NİĞDE

#15. Ulusal Parazitoloji Kongresi (18-23 Kasım 2007, Kayseri-Ürgüp)'nde sunulmuştur.

*Corresponding author e-mail: bkaratepe@ohu.edu.tr

ÖZ

Bu çalışma, Niğde yöresinde Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi uygulama kümesinde yetiştirilen bildircinlarda (*Coturnix coturnix japonica*) *Toxoplasma gondii*'nin seroprevalansının belirlenmesi amacı ile yapılmıştır. Bu amaçla, 139'u erkek ve 5'i dişi olmak üzere toplam 144 bildircin elde edilen kan serumu örnekleri Sabin-Feldman boya testi (SFDT) ile anti-*Toxoplasma gondii* antikorları yönünden incelenmişlerdir. Bu test sonucunda incelenen 144 bildircin serumunun tümü *T. gondii* antikorları yönünden seronegatif bulunmuştur. Bu durum endüstriyel olarak üretilen bildircinların daha iyi yetiştirme koşullarına sahip olduğunu göstermektedir. Sonuç olarak bu çalışma ile Niğde yöresinde bildircinlarda ilk kez toxoplasmosis varlığı serolojik yöntemle araştırılmış ve seropozitiflik tespit edilememiştir.

Anahtar Kelime: Bildircin (*Coturnix coturnix japonica*), Niğde, *Toxoplasma gondii*, Sabin-Feldman boya testi.

Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Quails (*Coturnix Coturnix Japonica*) in Niğde Province, Turkey

ABSTRACT

The aim of the present study was to investigate the seroprevalence of *Toxoplasma gondii*. Quails were obtained from Niğde Ömer Halisdemir University poultry. A total of 144 (139 male and 5 female) quails were used for collection of blood samples. The sera were tested for *T. gondii* antibodies using the Sabin Feldman Dye Test (SFDT). All of the 144 quail serum samples tested were seronegative for *T. gondii* antibodies. This situation shows that the quails produced in an industrial way have better breeding conditions. In conclusion, this is the first serological study on toxoplasmosis in the quails in the Niğde province of Turkey and seropositivity could not be detected in this study.

Key Words: Quail (*Coturnix coturnix japonica*), Niğde, *Toxoplasma gondii*, Sabin-Feldman dye test.

GİRİŞ

Toxoplazmosis zorunlu hücre içi paraziti olan *Toxoplasma gondii*'nin neden olduğu, bütün dünyada yaygın olarak tüm memeli ve kanatlılarda görülen zoonotik protozoer bir enfeksiyondur. Hastalık etkeninin gelişmesinde insan, memeli hayvanlar ve kanatlılar ara konak, kediler ise hem ara hem de son konaktır (Dubey ve Beattie, 1988). Kanatlı hayvanlarda toxoplazmosis diğer hayvanlardaki gibi subklinik seyrederek ve bunlar yaşamları boyunca parazitin doku kistlerini taşıyabilir (Dubey ve Beattie, 1988, Dubey, 2002). Bununla beraber, kanatlılarda hastalığın akut döneminde toxoplazmosis için karakteristik olmayan ensefalomyelitise bağlı klinik belirtilerin ortaya çıktığı bildirilmiştir (Dubey ve Beattie, 1988, Dubey ve ark., 1993b, 1994a, b). Ayrıca kuşlarda oftalmik toxoplazmosis vakaları da rapor edilmiştir (Vickers ve ark., 1992, Williams ve ark., 2001). Dünyanın çeşitli ülkelerinde kanatlı hayvanlarda toxoplazmosisin; histolojik incelemeler (Biancifiore ve ark., 1986, Dubey ve ark., 1994a, b, Mikaelian ve ark., 1997, Quist ve ark., 1995), immunohistokimyasal (Mason ve ark., 1991, Quist ve ark., 1995, Vickers ve ark., 1992), otopsi bulguları (Biancifiore ve ark., 1986, Dubey ve ark., 1993a, b, c, 1994a, b) ve biyoassay (Biancifiore ve ark., 1986, Dubey ve Beattie, 1988, Dubey ve ark., 1993a, b, c, 1994a, b, 2005, Vickers ve ark., 1992) yöntemleriyle tespit edildiği bildirilmiştir. Ayrıca kanatlılarda hastalığın teşhisi amacıyla Modifiye Aglutinasyon test (MAT) ve Lateks Aglutinasyon testi (LAT) (Dubey ve ark., 1993a, b, c, 1994a, b, El-Massry ve ark., 2000, Kirkpatrick ve ark., 1990), İndirekt Hemaglutinasyon (IHA) (Ghorbani ve ark., 1990, Dubey ve ark., 1993a, b, c, 1994a, b, Mushi ve ark. 2001), Enzim Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (Biancifiore ve ark., 1986, Dubey ve ark., 1993c), İndirekt Fluoresan Antikor Testi (IFAT) (Literak ve ark., 1999, Sedlak ve ark., 2000, Abrahams-Sandi ve Vargas-Brenes, 2005) ve Sabin Feldman boya testi (SFDT) (Dubey ve ark., 1993a, c, 1994a, b) gibi serolojik testler de kullanılmıştır. MAT ve ELISA yöntemlerinin diğer serolojik yöntemlerden daha hassas olduğu bildirilmiş (Dubey ve ark., 1993b, Dubey, 2002) ve son yıllarda da hastalığın teşhisinde moleküler yöntemler kullanılmaya başlanmıştır (Dubey, 2002, Dubey ve ark., 2003, Casagrande ve ark., 2015). Türkiye'de evcil ve yabani kanatlılarda *T. gondii*'nin seroprevalansını belirlemek amacıyla yapılmış çeşitli serolojik çalışmalar bulunmakla birlikte (Babür ve ark., 1998, 1999, Bıykoğlu ve ark., 2002, İnci ve ark., 1998, 2002b, Saraçoğlu ve ark., 1995, Zeybek ve ark., 1997, Cicek ve ark., 2004, Altınöz ve ark., 2007) bıldırcınlar üzerinde yapılmış sadece bir toxoplazmosis araştırmasına rastlanmıştır (İnci ve

ark., 2002a). Bunun yanında ülkemizde yabani kuşlarda *T. gondii*'nin varlığı moleküler yöntemlerle de ortaya konulmuştur (Muz ve ark., 2015). Bu çalışma ile Niğde yöresinde ilk kez bıldırcınlarda *T. gondii* enfeksiyonunun Sabin-Feldman boya testi ile seroprevalansının saptanması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada, Kasım 2006-Ocak 2007 tarihleri arasında Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi uygulama kümesinde yetiştirilen 139'u erkek ve 5'i dişi olmak üzere toplam 144 bıldırcından (*Coturnix coturnix japonica*) kan alınmıştır. Alınan kanlar oda ısısında 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serumları çıkartılmıştır. Elde edilen serumlar test edilinceye kadar -20°C'de saklanmışlardır. Test edilmeden önce -20°C'den çıkarılan serumlar 56°C'de 30 dakika inaktive edilmişlerdir. İnaktivasyondan sonra SFDT ile anti-*T. gondii* antikorları yönünden incelenmişlerdir. Sabin-Feldman boya testi, Ankara Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığının Rutin Toxoplasma Laboratuvarında tekniğine uygun olarak canlı antijen ve metilen mavisi boyamaları ile gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR

Bu çalışmada, araştırma materyalini oluşturan 139'u erkek ve 5'i dişi olmak üzere toplam 144 bıldırcın serumunda Sabin Feldman boya testi (SFDT) ile anti-*Toxoplasma gondii* antikorlarının varlığı araştırılmış ve bıldırcınların tümü *T. gondii* antikorları yönünden seronegatif bulunmuştur.

TARTIŞMA

Kanatlılarda toxoplazmosisin genellikle subklinik seyirli olduğu bildirilmiş (Dubey ve Beattie, 1988, Dubey, 2002) olmakla beraber bazı araştırmacılar doğal (Mason ve ark., 1991, Vickers ve ark., 1992) veya deneysel (Biancifiore ve ark., 1986, Dubey ve ark., 1993a, b, 1994a, b) enfekte kanatlılarda; bu hastalığa spesifik olmayan sinirsel fonksiyon bozuklukları, ataksi, inkoordinasyon, titreme, tortikollis, iştahsızlık, ishal, hırıltılı solunum, iridosiklitis ve körlük gibi semptomların gözlemlendiği klinik toxoplazmosis vakaları bildirmişlerdir. Dubey ve ark. (1993a, 1994a), yaptıkları deneysel çalışmalarda bıldırcınların *T. gondii* enfeksiyonuna karşı yüksek oranda hassasiyet gösterdiğini saptamışlardır. Dubey ve ark. (1994a) bu parazitle deneysel olarak enfekte ettikten sonra ince barsak ve dalak toxoplazmosisli olarak belirledikleri bıldırcınların şiddetli protozoal pnemoni, myokarditis veya meningoensefalitis geliştirecek kadar yeterli süre yaşadıklarını belirlemiş, 5-8. günlerde ölenlerde ise akut, şiddetli

ve nekrotik enteritisin asıl lezyon olduğunu tespit etmişlerdir. Bunun yanında aynı araştırmacılar (Dubey ve ark., 1994a), biyoassay yöntemiyle 11 bıldırcını *T. gondii* yönünden pozitif bulmuşlar ve bunların hepsinin iskelet kaslarından, 10'unun ise kalp ve beyinden *T. gondii* izole ettiklerini bildirmişlerdir. Kanatlı hayvanlarda toxoplasmosisin teşhisi, histolojik incelemeler ve otopsi bulguları ile immunohistokimyasal, biyoassay, serolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak yapılabilmektedir (Dubey, 2002). Kanatlılarda *T. gondii* enfeksiyonunun serodiagnozunda MAT, LAT, IHA, ELISA, IFAT ve SFDT gibi serolojik yöntemlerden yararlanılmıştır (Biancifiori ve ark., 1986, Dubey ve ark., 1993a, b, c, 1994a, b, Kirkpatrick ve ark., 1990, El-Massry, 2000, Abrahams-Sandi ve Vargas-Brenes, 2005). Dubey ve ark. (1993a, 1994a), bıldırcınlarda yaptıkları deneysel çalışmalarda MAT ile LAT ve IHA'dan daha yüksek oranda antikor titresi elde ettiklerini belirtmişlerdir. Ülkemizde kanatlı hayvanlarda *T. gondii*'nin varlığı yapılan çeşitli serolojik çalışmalarla ortaya konulmuştur. Bunlardan Ankara'da tavuklarda IHA testi ile yapılan bir çalışmada anti-*T. gondii* antikorları saptanamamıştır (Saraçoğlu ve ark., 1995). Yine Ankara'da Zeybek ve ark. (1997) tarafından tavuklar üzerinde yürütülen çalışmada LAT ile %7.5, SFDT ile %14.6 oranında *T. gondii* seropozitifliği belirlenmiştir. İnci ve ark. (1998), Ankara, Çankırı ve Bursa illerinde SFDT ile evcil kanatlılarda anti-*T. gondii* antikorları araştırmışlar; tavuklarda %2.14, kazlarda %4.44 oranında toxoplasmosis seropozitifliği tespit etmişler, hindi ve ördeklere ise seropozitiflik belirleyememişlerdir. Babür ve ark. (1998), Sabin Feldman Boya testi ile inceledikleri 60 güvercinin tamamını anti-*T. gondii* antikorunu yönünden seronegatif bulmuşlardır. Bunu takiben İzmir ve Manisa yöresinde güvercinlerde Sabin Feldman Boya testi ile yapılan başka bir çalışmada *T. gondii* seropozitifliği % 1.29 olarak tespit edilmiştir (Babür ve ark., 1999). Marmara bölgesinde damızlık işletmelerde yetiştirilen tavuklarda SFDT ile anti-*T. gondii* antikorları tespit edilememiştir (Bıykoğlu ve ark., 2002). İnci ve ark. (2002b) Kayseri yöresinde yırtıcı kuşlar üzerinde SFDT ile yürüttükleri çalışmada; şahinlerde %10, doğanlarda %11.11, baykuşlarda %12.50, atmacalarda %11.11 oranında *T. gondii* spesifik antikorları tespit etmişler, balıkçıl ve kartallarda ise seropozitiflik saptayamamışlardır. Çiçek ve ark. (2004) Afyon'da, Altınöz ve ark. (2007) Konya yöresi'nde yumurta tavukları üzerinde SFDT ile yaptıkları çalışmalarda sırası ile %0.6 ve %0.34 oranında *T. gondii* antikorları tespit etmişlerdir. Babür ve ark. (2008) Niğde yöresinde hindilerde SFDT ile %1.40 oranında *T. gondii* seropozitifliği belirlemişlerdir. Karatepe ve ark. (2011) Niğde yöresinde evcil güvercinlerde SFDT ile %0.95 ve yabani

güvercinlerde %0.90 oranında toxoplasmosis seroprevalansı bulmuşlardır. Son yıllarda *T. gondii*'nin saptanmasında moleküler yöntemler kullanılmaya başlanmış ve Muz ve ark. (2015) yabani kuş türlerinin beyin dokusunda moleküler yöntemle %9 oranında *T. gondii* tespit etmişlerdir. Türkiye'de bıldırcınlarda toxoplasmosis üzerine yapılmış yalnızca bir çalışmaya rastlanmış ve bu çalışma Kayseri ve Ankara'dan temin edilen bıldırcınlarda gerçekleştirilmiştir (İnci ve ark., 2002a). Araştırmacılar (İnci ve ark., 2002a), Sabin Feldman Boya testi ile inceledikleri 100 bıldırcının tamamını anti-*T. gondii* antikorunu yönünden seronegatif bulmuşlardır. Yapılan bu çalışmada da Niğde yöresinde muayene edilen 144 bıldırcının hiçbirinde *T. gondii* seropozitifliği saptanamamıştır. Her iki çalışmada da bıldırcınlarda toxoplasmosis belirlenememesi; bıldırcınların kontrollerinin düzenli yapılmasına, bakım-besleme koşullarının iyi olmasına ve hijyen şartlarına dikkat edilmesine bağlanabilir.

SONUÇ

Sonuç olarak bu çalışma ile Niğde yöresinde ilk kez bıldırcınlarda toxoplasmosisin varlığı SFDT ile araştırılmış ve incelenen toplam 144 bıldırcında seropozitiflik saptanamamıştır. Bu durum endüstriyel bıldırcın yetiştiriciliğindeki hijyenik standartların ileri düzeyde olduğunu düşündürmektedir. Bununla birlikte toxoplasmosisin epidemiyolojisinde bıldırcınların rolünün tam olarak belirlenebilmesi için MAT ve ELISA gibi daha duyarlı olduğu belirtilen serolojik testlerle ve moleküler yöntemlerle daha geniş çapta çalışmaların yapılmasının faydalı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abrahams-Sandi E, Vargas-Brenes O.** Serological Prevalence of *Toxoplasma gondii* in Free-range Chickens from Costa Rica. Tropical Animal Health and Production. 2005; 37 (5): 369–372.
- Altınöz F, Babür C, Kiliç S.** Konya Yöresinde Yumurta Tavuklarında Sabin-Feldman Boya Testi ile *Toxoplasma gondii* (Nicolle ve Manceaux, 1908) Seropozitifliğinin Araştırılması. T Parazitoloj Derg. 2007; 31 (1): 4-6.
- Babür C, Gıcık Y, İnci A.** Ankara'da güvercinlerde Sabin-Feldman Boya testi ile anti-*Toxoplasma gondii* antikorlarının araştırılması. T Parazitoloj Derg. 1998; 22 (3): 308-310.
- Babür C, Pişkin FÇ, Bıykoğlu G, Mutlu ÖF.** İzmir ve Manisa yöresi güvercinlerinde (*Columba sp.*) anti-*Toxoplasma gondii*

- antikorlarının Sabin-Feldman boya testi ile araştırılması. *T Parazitol Derg.* 1999; 23 (3): 309-311.
- Babür C, Karatepe B, Kılıç S, Karatepe M, Ergün G.** A note on seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in turkeys. *Indian Veterinary Journal.* 2008; 85: 994.
- Bıyıkoğlu G, Kılıç S, Babür C, Ayçiçek H.** Marmara bölgesi damızlık işletmelerinde yetiştirilen tavuklarda anti-*Toxoplasma gondii* antikorlarının araştırılması. *T Parazitol Derg.* 2002; 26 (4): 355-357.
- Biancifiore F, Rondini C, Grelloni V, Frescura T.** Avian Toxoplasmosis : Experimental infection of chicken and pigeon. *Comp Immun, Microbiol and Inf Dis.* 1986; 9 (4) : 337-346.
- Casagrande RA, Pena HFJ, Cabral AD, Rolim VM, de Oliveira LGS, Boabaid FM, Wouters ATB, Wouters F, Cruz CEF, Driemeier D.** Fatal systemic toxoplasmosis in Valley quail (*Callipepla californica*). *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife.* 2015; 4: 264-267.
- Cicek H, Babur C, Kilic S, Cakmak A.** Serologic prevalence of *Toxoplasma gondii* in chickens in Afyon, Turkey. *Indian Vet J.* 2004; 81: 1091-1092.
- Dubey JP.** A review of toxoplasmosis in wild birds. *Vet Parasitol.* 2002; 106: 121-53.
- Dubey JP, Beattie CP.** *Toxoplasmosis of Animals and Man.* CRC Press Inc Boca Raton, 1988, Florida.
- Dubey JP, Ruff MD, Kwok, OC, Shen SK, Wilkins GC, Thullienz P.** Experimental toxoplasmosis in bobwhite quail (*Colinus virginianus*). *J Parasitol.* 1993a; 79 (6) : 935-949.
- Dubey JP, Camargo ME, Ruff MD, Wilkins GC, Shen SK, Kwok, OC, Thullienz P.** Experimental toxoplasmosis in turkeys. *J Parasitol.* 1993b; 79 (6) : 949-952.
- Dubey JP, Ruff MD, Camargo ME, Shen SK, Wilkins GC, Kwok, OC, Thullienz P.** Serologic and parasitologic responses of domestic chickens after oral inoculation with *Toxoplasma gondii* oocysts. *Am J Vet Res.* 1993c; 54 (10) : 1668-1672.
- Dubey JP, Goodwin MA, Ruff MD, Kwok, OC, Shen SK, Wilkins GC, Thullienz P.** Experimental toxoplasmosis in Japanese quail. *J Vet Diagn Invest.* 1994a; 6 (2) : 216-221.
- Dubey JP, Ruff MD, Wilkins GC, Shen SK, Kwok, OC.** Experimental toxoplasmosis in pheasants (*Phasianus colchicus*). *J Wildl Dis.* 1994b; 30 (1) : 40-45.
- Dubey JP, Navarro IT, Graham DH, Dahl E, Freire RL, Prudencio LB, Sreekumar C, Vianna MC, Lehmann T.** Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from free range chickens from Paraná, Brazil. *Vet Parasitol.* 2003; 117 (3): 229-234.
- Dubey JP, Karhemere S, Dahl E, Sreekumar C, Diabate A, Dabire KR, Vianna MC, Kwok OC, Lehmann T.** First biologic and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens from Africa (Democratic Republic of Congo, Mali, Burkina Faso and Kenya). *J Parasitol.* 2005; 91 (1) : 69-72.
- El-Massry A, Mahdy OA, El-Ghaysh A, Dubey JP.** Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in sera of turkeys, chickens and ducks from Egypt. *J Parasitol.* 2000; 86 (3) : 627-628.
- Ghorbani M, Gharavi MJ, Kahn moui A.** Serological and parasitological investigations on *Toxoplasma* infection in domestic fowls in Iran. *Iranian J Publ Health* 1990; 19: 9-17.
- İnci A, Babür C, Dinçer Ş, Erdal E.** Türkiye'nin bazı illerinde evcil kanatlılarda Sabin-Feldman boya testi ile anti-*Toxoplasma gondii* antikorlarının saptanması. *T Parazitol Derg.* 1998; 22 (4): 420-423.
- İnci A, Babür C, İşcan KM, İça A.** Bildircinlarda (*Coturnix coturnix japonica*) *Toxoplasma gondii* (Nicolle ve Manceaux, 1908) spesifik antikorlarının Sabin-Feldman boya testi ile araştırılması. *T Parazitol Derg.* 2002a; 26 (1): 20-22.
- İnci A, Babür C, Çam Y, İça A.** Kayseri yöresinde bazı yırtıcı kuşlarda Sabin-Feldman boya testi ile *Toxoplasma gondii* (Nicolle ve Manceaux, 1908) seropozitifliğinin araştırılması. *FÜ Sağlık Bil Derg.* 2002b; 16 (2): 177-179.
- Karatepe M, Kılıç S, Karatepe B, Babur C.** Prevalence of *Toxoplasma gondii* Antibodies in Domestic (*Columba livia domestica*) and Wild (*Columba livia livia*) Pigeons in Niğde region, Turkey. *T Parazitol Derg.* 2011; 35: 23-26.
- Kirkpatrick CE, Colvin BA, Dubey JP.** *Toxoplasma gondii* antibodies in common barn-owls (*Tyto alba*) and pigeons (*Columba livia*) in New Jersey. *Vet Parasitol.* 1990; 36 (1-2): 177-180.
- Literak I, Sedlak K, Juricova Z, Pavlasek I.** Experimental toxoplasmosis in house sparrows (*Passer domesticus*). *Avian Pathol.* 1999; 28: 363-368.
- Mason RW, Hardley WJ, Dubey JP.** Lethal toxoplasmosis in a little penguin (*Endyptula*

- minor*) from Tasmania. J Parasitol. 1991; 77 (2) : 328.
- Mikaelian I, Dubey JP, Martineau D.** Severe hepatitis resulting from toxoplasmosis in a barred owl (*Strix varia*) from Quebec, Canada. Avian Dis. 1997; 41 (3) : 738-740.
- Mushi EZ, Binta MG, Chabo RG, Ndebele R, Panzirah R.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Chlamydia psittaci* in domestic pigeon (*Columba livia domestica*) at Sebele, Gaborone, Botswana. Onderstepoort J Vet Res 2001; 68: 159-161.
- Muz MN, Orunç Kılınc Ö, İşler Cafer Tayer, Altuğ E, Karakavuk M.** Bazı Yabani Kuşların Beyin Dokularında *Toxoplasma gondii* ve *Neospora caninum*'un Moleküler Tanısı. Kafkas Univ Vet Fak Derg. 2015; 21 (2): 173-178.
- Quist CF, Dubey JP, Luttrell MP, Davidson WR.** Toxoplasmosis in wild turkeys : a case report and serologic survey. J Wildl Dis. 1995; 31 (2) : 255-258.
- Saraçoğlu F, Sayıl T, Aslan A.** Tavuklarda toxoplasma antikörleri taraması. 1. Ulusal Toxoplasma Kongresi Özet Kitabı, 1995; 49-50.
- Sedlak K, Literak I, Vitula F, Benak, J.** High susceptibility of partridges (*Perdix perdix*) to toxoplasmosis compared with other gallinaceous birds. Avian Pathol. 2000; 29: 563–569.
- Vickers MC, Hartley WJ, Mason RW, Dubey JP, Schollam L.** Blindness associated with toxoplasmosis in canaries. J Am Vet Med Assoc. 1992; 200 (11) : 1723-1725.
- Williams SM, Fulton RM, Render JA, Mansfield L, Bouldin M.** Ocular and encephalic toxoplasmosis in canaries. Avian Dis. 2001; 45 (1): 262-267.
- Zeybek H, DüNDAR B, Altıntaş K, Güngör Ç.** Ankara yöresi tavuklarında *Toxoplasma gondii*'nin seroprevalansı. Etlik Vet Mikrob Derg. 1997; 9 (2) : 91-98.

Kültür Levrek (*D. labrax*) Balıklarından İzole Edilen *Vibrio anguillarum* İzolatlarının Karakterizasyonu

Tülay AKAYLI*, Mehmet DURNA

İstanbul Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, İSTANBUL

*Corresponding author e-mail: takayli@istanbul.edu.tr

ÖZ

Bu çalışmada kültür levrek balıklarında (*D. labrax*) Vibriosis'e neden olan *Vibrio anguillarum*'un bakteriyolojik, moleküler ve serolojik karakterizasyonu yanısıra biyofilm oluşturma özelliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Araştırmada 150-200 gr ağırlığında, hastalık belirtileri gösteren 5 adet levrek balığından örneklem yapılmıştır. Hasta balık örneklerinin iç organlarından farklı besiyerlerine bakteriyolojik ekimler yapılmıştır. Bakteri izolatları biyokimyasal özelliklerine göre *V. anguillarum* olarak adlandırılmıştır. İzolatlar, bu türe özgü olan *rpoN* PCR analizi sonucunda 519 bp'lik tek bant oluşturmuştur. *V. anguillarum* O1, O2 ve O3 serotiplerine karşı geliştirilmiş antikorlar kullanılarak gerçekleştirilen lam aglütinasyon ve Dot-blot testleri sonucunda; çalışmadaki hasta kültür levrek balığı örneklerinden izole edilen *V. anguillarum* izolatlarından elde edilen O-antijen ekstraktları yalnızca türün O1 serotipine karşı geliştirilen antikorla reaksiyona girmiştir. Referans bakteriler ile bu çalışmadan izole edilen 5 adet *V. anguillarum* izolatının ELISA plağında biyofilm oluşturma yetenekleri incelenmiştir. Sonuç olarak; bu çalışma ile *V. anguillarum*'un ülkemizde ilk kez Dot-blot metodu ile serotiplendirmesi yapılmıştır.

Anahtar Kelime: Dot-blot, Levrek, *rpoN* PCR, *Vibrio anguillarum*.

Characterization of *Vibrio anguillarum* Isolates Recovered From Diseased Cultured European Sea Bass (*D. Labrax*)

ABSTRACT

The aim of this study is the bacteriological, molecular and serological characterization and determination of the biofilm formation of *Vibrio anguillarum* isolates that induced vibriosis in cultured sea bass (*D. labrax*). In this study, sampling studies were made on 5 fish samples weighing between 150-200 g, showing some disease signs supplied from fish farm. As a result of the bacteriological inoculations on the different media made from the internal organs of the diseased fish samples such as liver, kidney and spleen. Bacterial isolates were identified as *V. anguillarum* according to their biochemical properties. Isolates that were identified as *V. anguillarum* formed a single band of 519 bp in the *rpoN* PCR analysis. In the slide agglutination and Dot-blot tests that were performed by using antibodies raised against *V. anguillarum* serotypes O1, O2 and O3, O-antigen extracts obtained from *V. anguillarum* recovered from diseased cultured sea bass in this study, only reacted with the antibody raised against serotype O1. As a result, with this study, serotyping of *V. anguillarum* by Dot-blot method was examined for the first time in Turkey with this study.

Key Words: Dot-blot, sea bass, *rpoN* PCR, *Vibrio anguillarum*.

To cite this article: Akaylı T, Durna M. Kültür Levrek (*D. labrax*) Balıklarından İzole Edilen *Vibrio Anguillarum* İzolatlarının Karakterizasyonu *Kocatepe Vet J*. (2017) 10(3): 134-141.

GİRİŞ

Doğal ortamı Akdeniz kıyıları olan levrek (*Dicentrarchus labrax*) balığı yurdumuzda yetiştiriciliği yapılan en önemli deniz balığı türüdür (Çelikkale ve ark 1999, Alpbaz 2005, Memiş 2010). Kültür balığı yetiştiriciliğinde bakteriyel balık hastalıklarından kaynaklanan ekonomik kayıpları azaltmak için bu hastalıkların hızlı teşhis yöntemleri kullanılarak en kısa sürede tespit edilmesi ve etkili koruyucu (aşı, prebiyotik, probiyotik) önlemlerin alınması yanı sıra tedavi yöntemlerinin hızla uygulanması gerekmektedir (Timur ve Timur 2003, Buller 2004, Austin ve Austin 2012).

Deniz ve acı sularda yaşayan diğer balık türlerinde olduğu gibi levrek balıklarının da en önemli bakteriyel hastalığı vibriosisdir. Hastalığa neden olan başlıca *Vibrio anguillarum* (*Listonella anguillarum*) olmak üzere pek çok *Vibrio* türü bakteri mevcuttur (Buller 2004, Noga 2010, Austin ve Austin, 2012). Günümüzde vibriosis'e karşı tedavi ve aşılama çalışmaları devam etmesine rağmen, kullanılan antibakteriyel maddelere karşı duyarlılığın azalması ve aşısı üretilen bakterinin uygun serotipinin belirlenememesinden kaynaklanan aşılama başarısızlıklar söz konusudur (Knappskog ve ark 1993, Austin ve Austin 2012).

Araştırmacılar *V. anguillarum*'un 23 farklı serotipi olduğunu rapor ederken (Sorensen ve Larsen 1986, Pedersen ve ark 1999) kültürü yapılan ve doğadaki balıklarda daha çok O1 ve O2 serotipleri (Sorensen ve Larsen, 1986) izole edilmekte ve O3 ve O4 serotiplerinin de balıklarda ciddi ölümlere neden olduğu bildirilmektedir (Santos ve ark 1996, Austin ve Austin 2012). Santos ve ark (1996) Fransa'da ki kültür levrek balıklarından O3 serotipini izole ederken yurdumuzdaki bu balık türünde ise O1 serotipinin hastalığa neden olduğu rapor edilmektedir (Tanrıkul ve ark 2004).

V. anguillarum'un bakteriyolojik (Çağırğan ve Yürekli Türk 1996, Korun 2004, Kimberley ve Macnair 2004) ve moleküler düzeyde teşhisi yapıldıktan (Hirono ve ark. 1996, Gonzales ve ark. 2003, Demircan 2004, Güralp 2012) sonra aglütinasyon (Sorensen ve Larsen 1986), Enzim-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (Knappskog ve ark 1993) ve Dot-blot gibi farklı serolojik yöntemlerle kullanılarak serotipinin belirlenmesi aşı üretiminin başarısı oldukça önemlidir (Cipriano ve ark 1985, Santos ve ark 1996; A Silva-Rubio ve ark 2008).

Biyofilm; mikroorganizmaların doğada varlığını sürdürmek için kullandıkları bir yaşam tarzıdır (O'toole ve ark 2000, Allison 2003). Akutik patojen bakteriler; biyofilm oluşturma özelliğine bağlı olarak gelişmiş bir enfeksiyon oluşturma yeteneğine sahiptirler. Farklı bilim insanları yaptıkları çalışmalarda biofilmlerin *V. anguillarum*'un hayatta

kalma, virülans ve stres direncinde önemli etkisi olduğunu bildirmişlerdir (Nagata ve Eguchi 2003, Wang ve ark 2003, Defoirdt ve ark 2005, You ve ark 2007, Nurcan ve ark 2016).

Bu çalışma ile hasta levrek balıklarından izole edilen *V. anguillarum*'un bakteriyolojik ve moleküler yöntemlerden olan PCR yöntemiyle teşhisinin yapılması, lam aglütinasyon ve Dot-blot yöntemlerini kullanarak bakterinin serotiplendirilmesinin yanısıra biyofilm oluşumunun tespit edilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Hasta Balık Örneklerinin Temini ve Bakteriyolojik Ekimler

Bu çalışmada kullanılan ve ağırlıkları 150-200 gr. arasında değişen 5 adet hasta levrek balığı 2011 yılında Ege Bölgesi'nde bulunan bir deniz balığı işletmesinden temin edilmiştir. 2-phenoxyethanol (0,4 ml/litre) ile bayıltılan (Noga, 2010) balıkların öncelikle iç ve dış bakıdaki klinik bulguları kaydedilmiştir. Daha sonra bu balıkların karaciğer, dalak ve böbrek gibi iç organlardan %1.5 NaCl içeren Triptik Soy Agar (TSA) besiyerine bakteriyolojik ekimler yapılmış ve petripler 22 °C'de 3-4 gün süresinde etüvde inkübe edilmiştir.

Hasta Balıklardan *V. anguillarum*'un İzolasyonu ve Teşhisi

İnkübasyon sonunda üreyen bakterilerin koloni morfolojileri incelenerek tür düzeyinde teşhisinin yapılabilmesi için rutin bakteriyolojik yöntemler ve biyokimyasal testlere geçilmiştir (Actis ve ark 1999, Austin ve Austin 2012). Referans bakteri olarak İspanya'da ki kültür kalkan (*Psetta maximus*) balıklarından izole edilen *V. anguillarum*'un O1 serotipine ait 1 adet suş ve yurdumuzdaki kültür çipura balıklarından elde edilen 3 adet *V. anguillarum* izolatu kullanılmıştır.

PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

İzole edilen bakterilere ait DNA örneklerinin hazırlanması için ticari olarak satılan InstaGene™ Matrix (BIO-RAD) kiti tercih edilmiştir. *Vibrio anguillarum*'un *rpoN* genine ait 519 baz çiftini çoğaltmaya yarayan *rpoN-ang5'* isimli 5'-GTTT-ATAGCATCAATGAGGAG-3' ileri ve *rpoN-ang3'* isimli 5'-GAGCAGACAATATGTTGGATG-3' geri primerleri kullanılmıştır. Bu amaçla Termal-döngü cihazına yerleştirilen örnekler için ilk denatürasyon basamağı için 95 °C'de 3 dakika ve ardından 95 °C için 1 dakika, primerlerin bağlanması için 62 °C'de 1 dakika ve 72 °C'de 40 saniye ve final

basamağı olan ürünlerin son uzaması için 72 °C'de 5 dakika olacak şekilde 30 döngüye ayarlanmıştır. Oluşan PCR ürünleri % 1'lik agaroz jele yüklenerek elektroforez ile yürütülmüş ve 519 bp rpoN gen parçasının çoğaltıp çoğalmadığı incelenmiştir (Gonzalez ve ark 2003).

V. *anguillarum* İzolatlarının Serolojik Yöntemlerle Serotiplendirilmesi

Bu çalışmada hasta levrek balıklarından izole edilen bakterilerin serotiplendirilmesinde lam aglütinasyon ve Dot-blot teknikleri kullanılmıştır.

Lam aglütinasyon testi için kendi izolatlarımız ve referans bakterilerimizden antijen örnekleri hazırlanmıştır. Bu antijenler ile İspanya'daki Santiago De Compostela Üniversitesi Biyoloji Fakültesi Mikrobiyoloji ve Parazitoloji Bölümü İhtiyopatoloji grubundan temin edilen *V. anguillarum* O1, O2 ve O3 serotiplerine karşı geliştirilmiş antiserum örnekleri eşit hacimlerde temiz bir lam üzerine damlatılmış ve oluşan çökeltme reaksiyon sonuçları 2-3 dakika içerisinde değerlendirilmiştir (Sorensen ve Larsen 1986, Toranzo ve ark 1987).

V. anguillarum'un izolatlarının serotipinin belirlenmesinde Cipriano ve ark (1985'nin) kullanmış oldukları Dot-blot yöntemi tercih edilmiştir. Öncelikle nitroselüloz membrana 1µl hacminde antijen örnekleri yüklenmiştir. Daha sonra membran %3 oranında jelatin içeren Triptik Soy Broth (TSB) karışımında 1 saat çalkalamalı etüvde bekletilerek blotlama işlemi yapılmış ve 3 kez yıkanmıştır. Yıkandıktan sonra nitroselüloz membrana Bio-Rad firmasından ticari olarak satın alınan keçide üretilmiş Goat Anti-rabbit IgG (H-L)-AP konjugatı %1 jelatin içeren TSB ile 1/1000 oranında sulandırılarak eklenmiştir. Membran üzerinde mor renkli leke oluşumu (leke) pozitif sonuç olarak kabul edilmiştir.

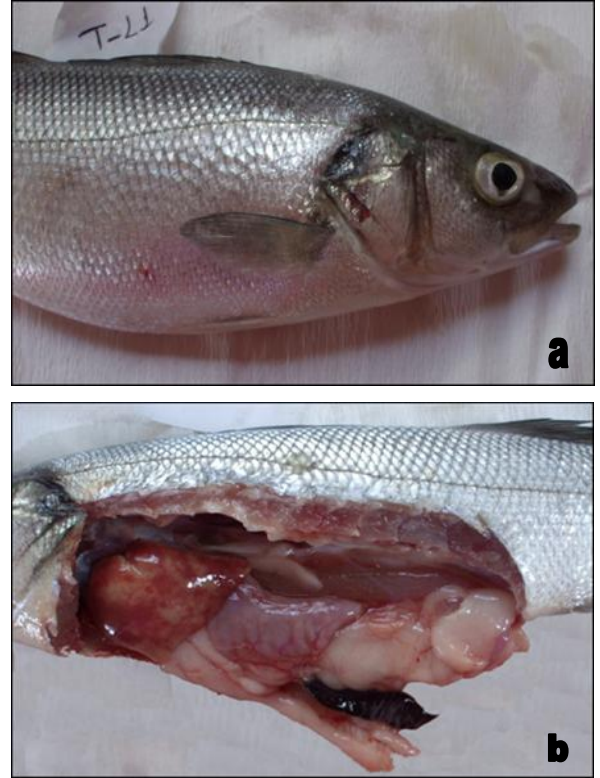
Biyofilm Testi

İzolatların biyofilm oluşturma yetenekleri Woodward ve ark (2000)' nın önermiş oldukları metoda göre tespit edilmiştir. ELISA plaklarının her bir kuyucuğuna 100 µl hacimde bakteri solüsyonu ilave edilmiştir. Plakların 2, 3 ve 4 günlük inkübasyonu sonunda 595 nm' de başlangıç optik yoğunlukları ölçülmüştür. Daha sonra her bir kuyucuğa 130 µl'lik kristal viyole solüsyonu ilave edilmiş ve 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda 3 kez steril distile su ile yıkanan kuyucuklara 130 µl etanol/aseton (7/3) ilave edilerek oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilmiştir. Daha sonra optik yoğunluk tekrar ölçülerek her bir bakterinin etanol/aseton sıvısı içerisinde biyofilm oluşturup oluşturmadığı belirlenmiştir.

BULGULAR

Klinik Bulgular

Enfekte balık örneklerinin dış bakısında vücut üzerinde ve özellikle anal bölgede yaygın hemoraji gözlenirken iç bakıda ise karın içinde sıvı birikimi (Resim 1a), iç organlarda hemoraji ve hiperemi yanısıra visceral organlar arasında sıvı birikmesi ve yağlanma yanı sıra dalakta büyüme gibi hastalığa bağlı olarak gelişen klinik bulgular tespit edilmiştir (Resim 1b).



Resim 1. (a) Enfekte levrek balığında vücut üzerinde hemorajiler, (b) iç organlarda yaygın hemoraji ve dalakta büyüme

Figure 1.(a) Hemorrhages on the body in affected sea bass, (b) Common haemorrhage in internal organs and swollen spleen

Bakteriyolojik Bulgular

Bu çalışmadaki hasta levrek balıklarından 5 adet bakteri izolatu elde edilmiştir. Bu bakterilerin TSA besiyeri üzerinde krem renkli koloniler oluşturması, Gram-negatif, hareketli, fermentatif, sitokrom-oksidad ve katalaz testlerinde pozitif sonuç vermesi, O/129'a testine hassas olması, arjinin dihidrolaz pozitif, lizin ve ornitin dekarboksilaz negatif, indol, sitrat, jelatin, nitrat ve ONPG test sonuçlarının pozitif olması ve diğer fenotipik özellikleri nedeniyle daha önceki araştırmacıların bulguları ve referans bakterilerin sonuçları ile karşılaştırıldığında *V. anguillarum* olarak adlandırılmışlardır (Tablo 1). Bu bakteriler yanı sıra hasta balıklardan farklı *Vibrio* türleride izole edilmiştir.

Tablo 1: İzolatların fenotipik özellikleri
Table 1: Phenotypic characteristics of isolates

İzolat numarası	1	2	3	4	5	6
Gram	-	-	-	-	-	-
Morfoloji	b	b	b	b	b	b
Hareket	+	+	+	+	+	+
Sitokrom oksidaz	+	+	+	+	+	+
Katalaz	+	+	+	+	+	+
O/F	F	F	F	F	F	F
O/129 -150µg	H	H	H	H	H	H
TCBS'de üreme	Sarı	Sarı	Sarı	Sarı	Sarı	Sarı
Arjinin dihidroliz	+	+	+	+	+	+
Lizin dekarboksilaz	-	-	-	-	-	-
Ornitrin dekarboksilaz	-	-	-	-	-	-
Üre kullanımı	-	-	-	-	-	-
İndol	+	+	+	+	+	+
VP	+	+	+	+	+	-
ONPG	+	+	+	+	+	+
Jelatinaz	+	+	+	+	+	+
Amilaz	+	+	+	+	+	+
Eskulin	-	-	-	-	-	-
Sitrat kullanımı	+	-	+	+	+	+
Nitrat	+	+	+	+	+	-
Arabinoz	-	-	-	-	-	-
Sakkaroz	+	+	+	+	+	+
Maltoz	+	+	+	+	+	+
Mannoz	+	+	+	+	+	+
Mannitol	+	+	+	+	+	+
Sorbitol	+	+	+	+	+	+
İnositol	-	-	-	-	-	-
Laktoz	-	-	-	-	-	Z
Amyglidalin	-	-	-	-	-	-
Melibiyoz	-	-	-	-	-	-
Kanlı agarda hemoliz	β	β	β	β	β	-
4°C'de üreme	+	+	+	+	+	+
37°C'de üreme	+	+	+	Z	+	+
44°C'de üreme	-	-	-	-	-	-
% 0 NaCl'de üreme	-	-	-	-	-	-
% 3 NaCl'de üreme	+	+	+	+	+	+
% 5 NaCl'de üreme	+	+	+	Z	+	Z
% 8 NaCl'de üreme	-	-	-	-	-	-
% 10 NaCl'de üreme	-	-	-	-	-	-
Teşhis	V.	V.	V.	V.	V.	V.
	<i>anguillarum</i>	<i>anguillarum</i>	<i>anguillarum</i>	<i>anguillarum</i>	<i>anguillarum</i>	<i>splendidus I</i>

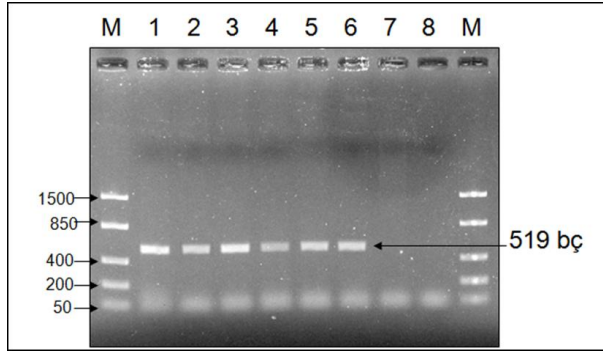
+: pozitif reaksiyon, -: negatif reaksiyon, F: fermentatif, b: basil, Z: zayıf, β: beta hemoliz, H: hassas
+:positive control, -:negative reaction, F: fermentative, b: bacil, Z: weak, β: beta hemolysis, H: sensitive

PCR Ürünlerinin Agarose Jel Elektroforez Bulguları

Biyokimyasal testler sonucu *V. anguillarum* olarak izole ve identifiye edilen 5 adet izolatın PCR ürünlerinin %1 agaroz jelde analizi sonucu 519 bp rpoN gen parçasının çoğaltımını yaptığı (Resim 2) ve bundan dolayı *V. anguillarum* olduğu tespit edilmiştir.

Aglütinasyon Bulguları

V. anguillarum O1, O2 ve O3 serotiplerini içeren antiserumlar kullanılarak gerçekleştirilen lam aglütinasyon testi sonucunda bakterilerin *V. anguillarum* O1 serotipine karşı geliştirilmiş serumla reaksiyona girdiği ve çökme oluşumu gözlemlendi ancak *V. anguillarum* O2 ve O3 serotiplerine karşı geliştirilmiş antiserumlarla herhangi bir reaksiyona girmedikleri görülmüştür.

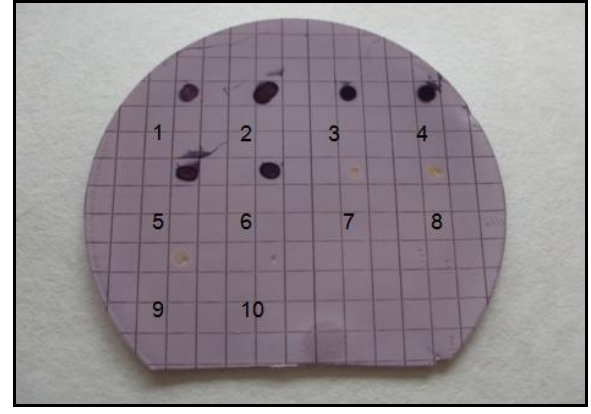


Resim 2: PCR ürünlerinin agaroz jelde görüntüsü (M: 50bp DNA Ladder plus; 1: Referans bakteri (pozitif kontrol); 2, 3, 4, 5 ve 6 izolatlar; 7, 8: *Vibrio* spp. izolatları (negatif kontrol))

Figure 2: Appearance of PCR products on agarose gel. (M: 50bp DNA Ladder plus, 1: Reference bacteria (positive control); 2, 3, 4, 5 ve 6 isolates; 7, 8: *Vibrio* spp. isolates (negative control))

Dot-blot Bulguları

Dot-blot testi sonucunda; incelenen tüm bakterilerin *V. anguillarum* O1 serotipine karşı geliştirilmiş poliklonal serumla reaksiyona girdiği ve pozitif reaksiyonun göstergesi olan nitroselüloz membranda nokta şeklinde mor renk oluşumu (leke) gözlemlenmiştir (Resim 3). Bu tekniğin kullanılması ile bakterilerin *V. anguillarum* serotip O1 oldukları tespit edilmiştir. Hasta balıklardan elde edilen farklı *Vibrio* sp. karşı ise negatif reaksiyona bağlı olarak mor renk oluşmamıştır (Resim 3).



Resim 3: Dot-blot testinde izolatlara ait mor renk oluşumu 1.Referans bakteri (pozitif kontrol); 2, 3, 4, 5 ve 6: izolatlar; 7, 8 ve 9: *Vibrio* spp.; 10: PBS (negatif kontrol)

Figure 3: Purple color formation of isolates in the dot-blot test 1.Reference bacteria (positive control); 2, 3, 4, 5 ve 6: isolates; 7, 8 ve 9: *Vibrio* spp.; 10: PBS (negative control)

Biyofilm Bulguları

Bu çalışmadaki hasta levrek balıklarından elde edilen izolatlar ve referans bakterinin biyofilm oluşturma yetenekleri için ELISA plağındaki 2., 3. ve 4. gün sonunda kristal viyoleye maruz bırakılarak yapılan ölçümler sonucunda biyofilm oluşumu $0.1 \leq OD_{595} < 1$ değerleri arasında yani pozitif olarak ölçülmüştür.

TARTIŞMA

Vibriozisin en önemli ve yaygın patojeni olan *V. anguillarum*; levrek balıklarında dahil olmak üzere dünyanın çeşitli bölgesindeki vibriosisle enfekte 48 farklı balık türünden de izole edilmiştir (Buller 2004, Noga 2010, Austin ve Austin 2012). Bu çalışma ile kültür levrek balıklarından izole edilen *V.anguillarum* izolatlarının bakteriyolojik ve moleküler yöntemlerle teşhisi yapılmış, aglütinasyon ve Dot-blot teknikleri ile serotipi O1 olarak belirlenmiş ve biyofilm oluşturma yeteneğine sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır.

Hasta levrek balıklarında dış bakıda vücut üzerinde hemorajiler, deri renginde koyulaşma, baş ve operkulumda görülen küçük hemorajik lezyonların yanısıra iç bakıda karın içinde sıvı birikimi, karaciğerde yaygın hemoraji ve hiperemi, dalakta büyüme ve iç organlar arasında yağlanma diğer araştırmacıların bulgularıyla benzerlik göstermektedir (Actis ve ark 1999, Demircan 2004, Austin ve Austin 2012).

Balık sağlığı ile ilgilenen bilim insanları moleküler bir teknik olan PCR yöntemini *Vibrio anguillarum*'un genetik tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır (Hirono ve ark 1996, Gonzales ve ark 2003). Bu çalışmada hasta levrek balıklarından izole edilen izolatların; moleküler teşhisi için türe özgü primerler kullanılarak gerçekleştirilen PCR yöntemi sonrası

519 bazlık rpoN genini çoğalttıkları tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre yurdumuzdaki levrek balıklarında ki *V. anguillarum*'un genetik tanısında kullandığımız PCR tekniğinin farklı araştırmacıların belirttiği gibi güvenilir ve hızlı bir teknik olduğu bir kez daha kanıtlanmıştır (Demircan 2004, Guralp 2012).

Aglütinasyon ve Dot-blot tekniği; düşük miktarda antiserum ile çok miktarda örnekle çalışılabilmesi, hızlı ve tekrar edilebilirliğinden dolayı bakteriyel balık hastalıklarının teşhisinde ve bakteriyel patojenlerin serotiplendirilmesinde yaygın olarak kullanılan serolojik yöntemlerdir (Cipriano ve ark 1985, Toranzo ve ark 2005, Silva-Rubio ve ark 2008). Bu çalışmadaki bakteriyel izolatların lam aglütinasyon testinde *V. anguillarum* O1 serotipine karşı geliştirilmiş olan antiserumla reaksiyona girerek çökme reaksiyonu oluşturduğu gözlenirken, aynı izolatlar *V. anguillarum* O2 ve O3 serotiplerine karşı geliştirilen antiserum örnekleri ile herhangi bir reaksiyona girmemiştir. Bu test sonuçlarına göre *V. anguillarum* serotip O1'in sadece salmonid ve kalkan balıklarının (Sorensen ve Larsen 1986, Pedersen ve ark 1999, Knappskog ve ark 1993) patojeni değil aynı zamanda bir deniz balığı türü olan levrek balıklarında da patojen olduğu bir kez daha ortaya çıkarılmıştır (Çağırğan ve Yürekli Türk 1996). Bu çalışmadaki nitroselüloz membran üzerinde poliklonal antikor kullanılarak gerçekleştirilen Dot-blot testinde; izolatların *V. anguillarum* O1 serotipini içeren poliklonal serumla reaksiyona girmesi sonucu bu membran üzerinde mor renk oluşumu (leke) gözlenmiş ve sonuç olarak bu izolatların serotip O1 olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen veriler göstermiştir ki Dot-blot tekniği yurdumuzdaki kültür balıklarından elde edilen *V. anguillarum* izolatlarının serotiplerinin belirlenmesinde, benzerlik gösteren suşların ayırt edilmesinde kullanılan hassas bir metottur (Cipriano ve ark 1985, Sorensen ve Larsen 1986, Bolinches ve ark 1990, Santos ve ark 1996, Silva-Rubio ve ark 2008).

Biofilm oluşturma yeteneğine sahip Gram-negatif bakteriler besin yokluğu, pH değişiklikleri, dezenfektanlar, fagositoz ve antibiyotiklere karşı daha dirençlidir (Defoirdt ve ark 2005, Pearson ve ark 1995). Diğer araştırmacıların (Nagata ve Eguchi 2003, Wang ve ark 2003, Defoirdt ve ark 2005, You ve ark 2007) da belirttiği gibi çalışmamızdaki balıklardan izole ve identifiye edilen *V. anguillarum*'un biyofilm oluşturma yeteneğine sahip olduğu anlaşılmıştır. Dünyada bu etkenden kaynaklanan hastalığın tedavisinde özellikle oksitetrasiklin gibi antibiyotiklere karşı direnç gelişmesinin sebebinin bakterinin biyofilm özelliğinden kaynaklanan ekstrakromozomal DNA ve direnç plazmidlerinin değişimine bağlı olarak genetik yapısının değişmesinden kaynaklandığı bildirilmektedir (Lindell 2012).

SONUÇ

Bu çalışmadaki hasta levrek balıklarında *V. anguillarum*'un bakteriyolojik ve moleküler teşhisinin yapılmış, bu bakterinin serolojik testlerden olan lam aglütinasyon ve Dot-blot tekniğine göre serotipinin O1 olduğu belirlenirken bakterinin biyofilm oluşturma yeteneğinin olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca Dot-blot tekniği kullanılarak ilk kez bu çalışma ile adı geçen bakterinin serotiplendirilmesinin yapılması mümkün olmuştur.

Teşekkür

Bu çalışma yüksek lisans tez çalışmasından üretilmiştir. Çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliği'nin 10072 ve 43910 numaralı projeleri ile desteklenmiştir. İspanya'da ki Santiago de Compostela Üniversitesi, Biyoloji Fakültesi'nde çalışan Prof. Dr. Juan L. Barja ve Prof. Dr. Alicia Estevez Toranzo'ya çalışmada kullandığımız referans bakteri ve antiserum örnekleri için teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Actis LA, Tolmasky ME, Crosa JH.** Vibriosis, In: *Fish Diseases and Disorders*, Vol. 3, Woo, P.T.K. and Bruno, D.W. (eds). CAB Intern. Publ., UK. 1999, pp. 523-558.
- Allison DG.** 2003, The biofilm matrix. *Biofouling*. 1996; 19: 139-150.
- Alpbaz A.** *Su Ürünleri Yetiştiriciliği*, Alp Yayınevi, İzmir. 2005.
- Austin B, Austin DA.** Vibrionaceae Representatives, In: *Bacterial Fish Pathogens*, Eds; Austin B, Austin DA., 5th Ed., Springer Dordrecht Heidelberg, London, UK. 2012; pp.369-389.
- Bolinches J, Lemos ML, Fouz B, Cambra M, Larsen JL, Toranzo AE.** Serological relationships among *Vibrio anguillarum* strains. *J Aquat Anim Health*.1990; 2 (1): 21-29.
- Buller N.** Bacteria from Fish and Other Aquatic Animals: a Practical Identification Manual, Ed: NB Buller, CABI Publishing, Oxford, İngiltere. 2004, 261 pp.
- Çağırğan H, Yürekli Türk O.** Kültürü yapılan çipura (*Sparus aurata*) ve levrek (*Dicentrarchus labrax*) balıklarında görülen bakteriyel hastalıkların teşhis ve tedavisi üzerine bir araştırma. *Bornova Vet. Kontrol ve Araş. Ens. Müd. Der.* 1996; 21: 113-122.
- Çelikkale MS, Düzgüneş E, Okumuş D.** Türkiye Su Ürünleri Sektörü Potansiyeli, Mevcut Durumu,

Sorunları ve Çözüm Önerileri, Eds; Çelikkale MS, Düzgüneş E, Okumuş D., İstanbul Ticaret

Odası, İstanbul, Türkiye.1999.

Cipriano RC, Pyle JB, Starliper CE, Pyle SW. Detection of *Vibrio anguillarum* antigen by dot blot assay. J Wildl Dis. 1985; 21: 211-218.

Defoirdt T, Bossier P, Sorgeloos P, Verstraete W. The impact of mutations in the quorum sensing systems of *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio anguillarum* and *Vibrio harveyi* on their virulence towards gnotobiotically cultured *Artemia franciscana*. Environ. Microbiol. 2005;7(8): 1239–1247.

Demircan MD. Deniz balıklarında Vibriozis'e neden olan *Vibrio anguillarum*'un PCR yöntemi ile tanısı. Yüksek Lisans Tezi, 2004, T.C. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Demircan D, Candan A. Identification of *Vibrio anguillarum* by PCR (*rpoN* gene) associated with vibriosis in marine fish in Turkey. Turk J Vet Anim Sci. 2006; 30: 305-310.

Gonzalez SF, Osorio CR, Santos Y. Development of a PCRbased Method for The Detection of *Listonella anguillarum* in Fish Tissues and Blood Samples. Dis. Aquat. Org. 2003; 55: 109-115.

Güralp H. Deniz kültür balıklarında görülen bakteriyel patojenlerin teşhisi ve antibakteriyel maddelere duyarlılıklarının belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, T.C. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2012.

Hirono I, Masuda T, Aoki T. Cloning and Detection of the Hemolysin Gene of *Vibrio anguillarum*. Microb Pathog. 1996; 21: 173-182.

Kimberley AW, Macnair NG. Finfish and Shellfish Bacteriology Manual: Techniques and Procedures. Eds: Kimberley AW, Macnair NG, Iowa State Press, Iowa, USA, 2004.

Knappskog DH, Rodseth OM, Slinde E, Endersen C. Immunochemical analyses of *Vibrio anguillarum* strains isolated from cod, *Gadus morhua* L., suffering from Vibriosis. J. Fish Dis.1993; 16: 327-338.

Korun J. Kültür Levrek Balıklarında (*Dicentrarchus labrax*, L.) Vibriosis ve Pasteurellosis'in Bazı Diagnostik Kitler ve Laboratuvar Yöntemleri ile Teşhisi Üzerine Bir

Çalışma. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi. 2004,143 pp.

Lindell K. Cell-to-Cell communication and virulence in *Vibrio anguillarum*. Department of Molecular Biology, Umea Center for Microbial Research UCMR, Umea, Sweden, 2012.

Memiş D. Deniz Balıkları Yetiştiriciliği, Filiz Kitabevi Basım Yayın Dağıtım, 2010, İstanbul, Türkiye.

Nagata EF, Eguchi M. Survival of *Vibrio anguillarum*, a Fish Pathogen, in Freshwater by Forming Biofilms. Microbes Environ. 2003; 18(4): 196-202.

Noga EJ. Fish Disease: Diagnosis and Treatment, Second Edition, Ed: Noga EJ, Iowa State University Press, Iowa, 2010.

Nurcan N, Kubilay A, Boşgelmez-Tınaz G. *Vibrio anguillarum* suşlarında çevreyi algılama sistemi ve virülens faktörlerinin incelenmesi. Eğirdir Su Ür. Fak. Der. 2016; 12(1):49-57.

O'toole G, Kaplan H, Kolter R. Biofilm formation as microbial development. Annu Rev Microbiol. 2000; 54, 49-79.

Pearson PJ, Passadori L, Iglewski BH, Greenberg EP. A second N-acylhomoserine lactone signal produced by *Pseudomonas aeruginosa*. Proc. Natl. Acad. Sci. 1995, 92: 1490-1494.

Pedersen K, Grisez L, Van Houdt R, Tiainen T, Ollevier F, Larsen JL. Extended Serotyping Scheme for *Vibrio anguillarum* with the Definition and Characterization of Seven Provisional O-Serogroups. Curr Microbiol. 1999; 38: 183-189.

Sorensen UBS, Larsen JL. Serotyping of *Vibrio anguillarum*. Appl. Environ. Microbiol.1986; 51(3): 593-597.

Timur G, Timur M. Balık Hastalıkları. Eds; Timur G, Timur M, İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayını, İstanbul. 2003.

Toranzo AE, Baya AM, Roberson BS, Barja JL, Grimes DJ, Hetrick FM. Specificity of slide agglutination test for detecting bacterial fish pathogens. Aquaculture.1987; 61, 81-97.

Santos Y, Pazos F, Toranzo AE. Biochemical and serological analysis of *Vibrio anguillarum* related organisms. Dis Aquat Org.1996; 26: 67-73.

- Silva-Rubio A, Avendaño-Herrera R, Jaureguiberry B, Toranzo AE, Magariños B.** First description of serotype O3 in *Vibrio anguillarum* strains isolated from salmonids in Chile. *J Fish Dis.* 2008; 31(3): 235–239.
- Wang YS, Lauritz J, Jass J, Milton DL.** Role for the major outer-membrane protein from *Vibrio anguillarum* in bile resistance and biofilm formation. *Microbiology.* 2003; 149: 1061–1071.
- Woodward MJ, Marcjanna S, Siprings AK, Humphrey TJ.** The role of SEF14 and SEF17 fimbriae in the adherence of *Salmonella enterica* serotype *enteritidis* to inanimate surfaces. *J Med Microbiol.* 2000; 49: 481-487.
- You JL, Xue XL, Cao LX, Lu X, Wang J, Zhang LX, Zhou SN.** Inhibition of *Vibrio* biofilm formation by a marine actinomycete strain A66. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2007; 76:1137–1144 .

Etçi Piliçlerde Damızlık Yaşı ve Erken Dönem Enerji Kısıtlamasının Mide - Bağırsak Kanalı Gelişimine Etkileri

Evren ERDEM

Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Zootečni Anabilim Dalı, KIRIKKALE

*Corresponding author e-mail: evrenerdem@kku.edu.tr

ÖZ

Bu araştırma etçi piliçlerde damızlık yaşı ve erken dönem enerji kısıtlamasının mide-bağırsak kanalı gelişimine etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Çalışmada iki farklı yaştaki damızlık sürülerden (27 ve 60 hafta) elde edilen toplam 120 adet erkek etçi civciv kullanılmıştır. Her bir damızlık yaşı grubu rastgele iki diyet grubuna (C – kontrol grubu, E – enerji kısıtlaması grubu) bölünmüştür. Genç damızlıklardan elde edilen 21 günlük etçi piliçlerde bezli mide ($P < 0,05$), duodenum ($P < 0,001$), ileum ($P < 0,01$) ve toplam ince bağırsak relatif ağırlığı, yaşlı damızlıklardan elde edilen etçi piliçlere göre yüksek olmuştur ($P < 0,001$). Besi periyodu sonunda, enerji kısıtlaması grubundaki etçi piliçlerde relatif ince bağırsak ağırlığı ve ince bağırsak uzunluğu, kontrol grubuna göre yüksek ($P < 0,05$; $P < 0,01$) bulunmuştur. Sonuç olarak, etçi piliçlerin sindirim sisteminin erken dönem enerji kısıtlamasına duyarlı olduğu ve erken dönem enerji kısıtlamasına adaptasyon sürecinin, relatif bezli mide ağırlığını azalttığı, relatif ince bağırsak ağırlığı ile ince bağırsak uzunluğunun ise artmasına neden olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelime: Enerji kısıtlaması, Etçi piliç, Mide - bağırsak kanalı gelişimi.

Effects of Breeder Age and Early Feed Energy Restriction on Development of Gastrointestinal Tract in Broilers

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the effects of breeder age and early feed energy restriction on development of gastrointestinal tract in broilers. One hundred twenty day-old male broiler chicks were obtained from a commercial hatchery of different breeder ages (27 and 60 wk). Each breeder group was randomly divided into two diet groups, which included control (C) and restricted energy (E) groups. Relative proventriculus ($P < 0.05$), duodenum ($P < 0.001$), ileum ($P < 0.01$) and total relative small intestinal weight of broilers obtained from young breeders was significantly higher ($P < 0.001$) than those obtained from old breeders at 21 days of age. The total small intestinal relative weight and total the small intestine length of broilers in the feed energy restriction group were found significantly higher ($P < 0.05$; $P < 0.01$) than the control group at the end of the fattening period. In conclusion, gastrointestinal tract development of broilers is susceptible to energy restriction at early growth period and adaptation of restricted energy diet decreased the proventriculus relative weight and increased the total relative weight and the total length of the small intestine.

Key Words: Energy restriction, Broiler, Gastrointestinal tract development.

GİRİŞ

Damızlık yaşı yumurta ağırlığı, yumurta sarı kesesi ağırlığını ve yumurta sarı bileşimini etkilemektedir. Kanatlı embriyosu kuluçka döneminde ihtiyacı olan besin maddelerini yumurta sarısı ve yumurta akından sağlamaktadır. Sarı kesesi, embriyonik dönemin 19. gününde embriyonun karın boşluğuna doğru çekilmeye başlar ve çıkımda sarı kesesi ağırlığı civciv ağırlığının % 15 - 20 'si arasındadır. Sarı kesesi, çıkımdan sonraki ilk günlerde, besin sağlamakla görevlidir ve yem alımına kadar civcivin büyüme ve gelişimini sağlar. Ayrıca, yumurta sarısındaki besin maddeleri ince bağırsak gelişimine de büyük katkıda bulunmaktadır. Çıkımda, civcivin büyüme ve gelişimi için kritik öneme sahip ince bağırsak anatomik yapı olarak karın boşluğunda bulunmasına rağmen, morfolojik ve fizyolojik yapısı tam olarak gelişmemiştir. Embriyonal dönemde yumurta sarısı ile beslenen civciv için karbonhidrat ve protein ağırlıklı beslemeye geçiş zamanı olan erken dönem (ilk 7 gün) mide-bağırsak kanalındaki morfolojik ve fizyolojik değişiklikler için kritik öneme sahiptir (Noy ve Sklan 1998, Noy ve ark. 2001, Sklan 2003, Uni ve ark. 2003, Atasoy ve ark. 2010, Yadgary ve ark. 2010, Yalçın ve ark. 2017). Erken dönem enerji kısıtlaması, çıkımdan sonra civcivin büyüme ve gelişiminde önemli rol oynayan mide - bağırsak sisteminin gelişimini olumsuz etkilemektedir. Tavuklarda yapılan çalışmalarda erken dönem enerji kısıtlamalarının mide-bağırsak kanalı gelişimini olumsuz etkilediği ve besi periyodunun daha sonraki dönemlerinde verilen dengeli rasyonlarla bu olumsuzluğun telafi edilemediği bildirilmiştir (Picard ve ark. 1999, Uni ve ark. 2000, Sklan ve Noy 2000, Dibner ve Richards 2004, Schaefer ve ark. 2006). Kanatlı türlerinde yapılan araştırmalar mide - bağırsak gelişimini kanatlı türüne ve yaşa göre incelemelerine rağmen (Leeson ve ark 1996, Noy ve ark. 2001, Sklan 2001, Yang ve ark. 2015) damızlık yaşı ve erken dönem enerji kısıtlamasının mide - bağırsak kanalı üzerine etkileriyle ilgili az sayıda araştırma bulunmaktadır (Mahmoud and Edens 2012, Yalçın ve ark. 2013). Bu çalışma etçi piliçlerde damızlık yaşı ve erken dönem enerji kısıtlamasının mide - bağırsak kanalı gelişimine etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Hayvan Materyali ve Araştırma Dizaynı

Araştırmada, iki farklı yaştaki damızlık sürüden elde edilen (27 ve 60 haftalık yaş) 120 adet günlük Ross 308 genotipi erkek civciv kullanılmıştır. Her iki damızlık yaşıdaki civcivler rastgele iki farklı enerji düzeyi içeren gruba (K - kontrol grubu (enerji kısıtlaması olmayan grup), E - enerji kısıtlaması uygulanan grup) bölünmüştür. Böylece 4 ana grup

oluşturulmuştur. Her ana grup 85 x 94 x 90 cm (genişlik x uzunluk x yükseklik) ölçülerindeki bölmelerle herbiri 6 civcivlik 5 tekrarlı alt gruplara ayrılmıştır. Yerleşim sıklığı 0,13 m² / civciv olmuştur. Bölme tabanları odun talaşı ile kaplanmıştır. İlk hafta her bölmeye bir adet civciv yemliği ve civciv suluğu yerleştirilmiş, ikinci hafta bu ekipmanlar her bölmede bir adet askılı yemlik ve iki adet damlalıklı suluk olacak şekilde değiştirilmiştir. Araştırma doğal havalandırmalı bir kümeste yapılmış, kümeste devamlı aydınlatma uygulanmıştır. Araştırma boyunca yem ve su *ad libitum* olarak sağlanmıştır. Kümes sıcaklığı, ilk 5 gün 33 °C olmuş, daha sonra kademeli olarak düşürülerek 21 °C olması sağlanmıştır. Besi süresi 42 gün olmuştur.

Rasyon

Araştırmada, ilk hafta tüm civcivlere başlangıç rasyonu (3010 kcal / kg ME ve % 23,10 HP) verilmiş, 8 - 14. günler arası her iki damızlık yaş grubu, kontrol ve enerji kısıtlamalı grup olmak üzere 2 ana gruba ayrılarak, kontrol grubuna enerji kısıtlaması yapılmamış başlangıç rasyonu (3010 kcal / kg ME ve 23,10 % HP) verilmiş, diğer gruba ise % 10 enerji kısıtlamalı rasyon (2707 kcal / kg ME and % 23,04 HP) verilmiştir (Yamauchi ve ark. 1995, Leeson ve ark. 1996). 15 - 21. günler arası tüm tavuklara enerji kısıtlaması yapılmamış rasyon (3010 kcal / kg ME ve 23,10 % HP) verilmiştir. 22 - 42. günler arasında ise tüm tavuklara bitiş rasyonu (3176 kcal / kg ME and 20,10 % HP) verilmiştir. Rasyonlar NRC 'ye göre belirlenmiş (NRC 1994) ve rasyon analizleri AOAC'ye göre yapılmıştır (AOAC 2000) (Tablo 1). Metabolize enerji düzeyleri Carpenter ve Clegg eşitliği ile belirlenmiştir (Carpenter ve Clegg 1956).

Mide-Bağırsak Kanalı Örnekleri

Araştırmanın ilk 7 günlük döneminde damızlık yaşı etkisini belirlemek amacıyla çıkım ve 7 günlük yaşta her damızlık yaşı grubundan 5 'er civciv olmak üzere toplam 10 civciv ve besinin diğer dönemlerinde (14, 21, 28, 35 ve 42. günler) damızlık yaşı ve enerji kısıtlamasının etkisini belirlemek amacıyla her damızlık yaşı ve rasyon alt grubundan birer civciv olmak üzere her hafta toplam 20 civciv ve 5 haftada toplam 100 civciv bireysel olarak tartıldıktan sonra kas içi 25 mg / kg dozda ketamin-HCl uygulanarak uyutulmuştur. Uyutulan civcivlerde sarı kesesi ve sindirim sistemi organlarından bezli mide, kashı mide ve ince bağırsak (duodenum, jejunum, ileum) bistüri ve pens yardımıyla dikkatlice karın boşluğundan alınmıştır. İlk önce sarı kesesi tartılmış, ince bağırsak bölümlerinin (duodenum, jejunum, ileum) uzunluğu ölçülmüş, daha sonra organların (bezli

mide, kaslı mide ve ince bağırsak bölümleri) içeriği tamamen alınmış ve tüm organlar ayrı ayrı tartılmıştır. Bu işlem her hafta, örnekleme yapılan her hayvana bireysel olarak uygulanmıştır (Picard ve ark. 1999). Mide-bağırsak kanalı relatif gelişimini belirlemek amacıyla organ ağırlıkları canlı ağırlığa oranlanarak relatif organ ağırlıkları belirlenmiştir (Shamoto ve Yamauchi 2000). *Duodenum*, kaslı mide ile pankreasın yerleştiği kıvrımın sonu arası bölge, *jejunum* duodenum sonu ile vitellus kesesi kalıntısı olarak bilinen meckel divertikulumu (divertikülüm sekum vitelli) arası bölge, *ileum* için; meckel divertikulumu ile ileo-sekal birleşme noktası arası bölge olarak kabul edilmiştir (Noy ve Sklan 1998, Noy ve ark. 2001, Samanya ve Yamauchi 2001). Araştırma için Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı alınmıştır (2012.13.85).

İstatistik Analizler

Çıkım ve 7. günde damızlık yaş grupları ortalamaları arası farklılığın önem kontrolünde Student's-t test, 14, 21, 28, 35 ve 42. günlerde damızlık yaşı ve rasyon grupları arası farklılığın önem kontrolünde GLM (general linear model) kullanılmıştır. Tablolardaki değerler ortalama ve standart hata olarak verilmiştir. Farklılığı önemli olan grupların karşılaştırılmasında Tukey testi uygulanmıştır. Önem düzeyi $P < 0.05$ olarak kabul edilmiştir (Dawson ve Trap 2001). Hesaplamalarda SPSS 14.1 paket programı kullanılmıştır.(SPSS 2001)

BULGULAR

Çıkım, 7 ve 14. günlerde sarı kesesi relatif ağırlığı üzerine damızlık yaşının etkisi önemsiz olmuştur. Çıkımdan sonraki 7 günlük dönemde yumurta sarısı tüketimi yaşlı damızlıklardan elde edilen civcivlerde, genç damızlıklardan elde edilen civcivlere göre daha yüksek oranda bulunmuştur (Tablo 2). Enerji kısıtlamasının etkisi 14. gün relatif sarı kesesi ağırlığı üzerine önemli olmuş ve sarı kesesi relatif ağırlığı, enerji kısıtlama grubundaki civcivlerde, kontrol grubundaki civcivlere göre düşük olmuştur ($P < 0,05$). 14 günlük dönemde yumurta sarısı tüketimi enerji kısıtlama grubundaki civcivlerde, kontrol grubundaki civcivlere göre yüksek olmuştur (Tablo 3). Çıkım ile 14. günler arası dönemde damızlık yaşının etkisi, çıkımda ince bağırsak toplam uzunluğu ($P < 0,05$) ve 7. gün bezli mide relatif ağırlığı ($P < 0,001$) hariç önemsiz olmuştur. Çıkımda, yaşlı damızlık sürüden elde edilen civcivlerde ince bağırsak uzunluğu genç damızlık sürüden elde edilen civcivlere göre yüksek ($P < 0,05$) olmuş, 7. gün bezli mide ağırlığı ise genç damızlık grubundaki civcivlerde daha yüksek ($P < 0,001$) olmuştur (Tablo 2). Damızlık yaşı 21. gün relatif bezli mide

($P < 0,05$) ve relative ince bağırsak ($P < 0,01$) ağırlığı üzerine etkisi önemli olmuş ve genç damızlıklardan elde edilen civcivlerde relatif bezli mide ağırlığı ve ince bağırsak ağırlığı ($P < 0,01$) yaşlı damızlıklardan elde edilen civcivlere göre yüksek olmuştur. Rasyondaki enerji kısıtlaması 21 ($P < 0,01$) ve 35. ($P < 0,05$) günlerdeki relatif bezli mide ağırlığını etkilemiş, bu dönemlerde enerji kısıtlama grubundaki civcivlerde relatif bezli mide ağırlıkları kontrol grubundakilere göre düşük olmuştur. İnce bağırsak relatif ağırlığı 35. günde enerji kısıtlama grubunda düşük ($P < 0,001$) olurken, 42. günde ince bağırsak relatif ağırlığı enerji kısıtlama grubunda, kontrol grubuna göre yüksek olmuştur ($P < 0,05$). Benzer durum relatif sekum ağırlığı için de geçerli olmuş ve sekum relatif ağırlığı 35. günde enerji kısıtlama grubunda düşük ($P < 0,05$) olurken, 42. gündeki relatif sekum ağırlığı enerji kısıtlama grubunda kontrol grubuna göre yüksek olmuştur ($P < 0,001$) (Tablo 4).Araştırmanın 35 ve 42. günlerindeki toplam ince bağırsak uzunluğu damızlık yaşı ve enerji kısıtlamasından çeşitli önemlilik düzeylerinde ($P < 0,05$; $P < 0,001$) etkilenmiştir. 35. gün yaşlı damızlık sürüsünden elde edilen, enerji kısıtlama grubundaki civcivlerde ince bağırsak uzunluğu, kontrol grubundaki civcivlere göre düşük ($P < 0,05$), 42. günde ise yaşlı damızlık sürüden elde edilen enerji kısıtlama grubundaki civcivlerde ince bağırsak uzunluğu, kontrol grubundaki civcivlere göre yüksek ($P < 0,05$) olmuştur. Damızlık yaşının sekum uzunluğuna etkisi 14 ($P < 0,01$), 21 ($P < 0,05$) ve 28. ($P < 0,001$) günlerde önemli olmuş ve yaşlı damızlık sürüden elde edilen civciv grubundaki sekum uzunluğu, genç damızlık sürüden elde edilen civciv grubuna göre yüksek olmuştur. Besi süresi boyunca enerji kısıtlamasının sekum uzunluğu üzerine etkisi önemsiz olmuştur (Tablo 5).

Tablo 1. Rasyonların içeriği ve kimyasal bileşimi (%).
Table 1. Ingredients and chemical composition of the diets (%).

	Başlangıç rasyonu (0 - 21. günler)	Enerji kısıtlamalı rasyon (8 - 14. günler)	Bitiş rasyonu (22 - 42. günler)
Mısır	41.50	44.92	46.45
Buğday	10.00	10.00	10.00
Soya küspesi	24.35	33.00	17.40
Tam yağlı soya	17.20	0	17.20
Ayçiçeği küspesi	0	6.23	0
Tavuk unu	2.50	2.50	2.50
Bitkisel yağ	1.10	0	3.30
Kireç taşı	1.00	1.00	1.00
DCP	1.20	1.20	1.20
Tuz	0.20	0.20	0.20
Sodyum bikarbonat	0.10	0.10	0.10
Metiyonin	0.30	0.30	0.25
Lizin	0.20	0.20	0.10
Treonin	0.05	0.05	0.05
Vitamin-mineral premiksi ¹	0.25	0.25	0.25
Antikoksidiyal ²	0.05	0.05	0
Composition (analyzed)			
Ham protein (%) ³	23.10	23.04	20.10
Metabolik Enerji, kcal/kg ⁴	3010	2707	3176

¹ Bir kg karma yemle sağlanan miktarlar: 15 000 IU vitamin A, 2 400 IU vitamin D₃, 30 mg vitamin E, 2.5 mg vitamin K₃, 2.5 mg vitamin B₁, 6 mg vitamin B₂, 4 mg vitamin B₆, 20 µg vitamin B₁₂, 25 mg niacin, 8 mg calcium-D-panthotenate, 1 mg folic acid, 50 mg vitamin C, 50 µg D-biotin, 80 mg Mn, 60 mg Zn, 60 mg Fe, 5 mg Cu, 1 mg I, 0.5 mg Co, 0.15 mg Se.

² Maksiban G160 (%50 Nikarbazin + %50 Narasin)

³ Değerler AOAC (1) ile belirlenmiştir.

⁴ Metabolize olabilir enerji düzeyleri Carpenter ve Clegg (4) formülü kullanılarak hesaplanmıştır.

¹ Supplied the following per kg of diet: 15 000 IU vitamin A, 2 400 IU vitamin D₃, 30 mg vitamin E, 2.5 mg vitamin K₃, 2.5 mg vitamin B₁, 6 mg vitamin B₂, 4 mg vitamin B₆, 20 µg vitamin B₁₂, 25 mg niacin, 8 mg calcium-D-panthotenate, 1 mg folic acid, 50 mg vitamin C, 50 µg D-biotin, 80 mg Mn, 60 mg Zn, 60 mg Fe, 5 mg Cu, 1 mg I, 0.5 mg Co, 0.15 mg Se.

² Maksiban G160 (%50 Nicarbazin + %50 Naracin)

³ Values were determined by AOAC (1)

⁴ Metabolizable energy levels were estimated by using the equation of Carpenter and Clegg (4).

Table 2. Etçi piliçlerde damızlık yaşının çıkım ve 7 günlük yaşta mide-bağırsak kanalı relatif ağırlık (%) ve ince bağırsak uzunluğuna (cm) etkisi.
Table 2. Effects of breeder age on relative gastrointestinal tract weights (%) and small intestinal length (cm) at hatch and 7 day of age of in broilers.

Yaş (gün)	Damızlık yaşı (hafta)	Sarı kese ağırlığı (%)	Bezli mide ağırlığı (%)	Kaşlı mide ağırlığı (%)	Duodenum ağırlığı (%)	Jejenum ağırlığı (%)	İleum ağırlığı (%)	İnce bağırsak toplam ağırlığı (%)	Sekum ağırlığı (%)	Duodenum uzunluğu (cm)	Jejenum uzunluğu (cm)	İleum uzunluğu (cm)	Toplam İnce bağırsak uzunluğu (cm)	Sekum uzunluğu (cm)
Çıkım	27	7.04±0.53	0.83±0.03	5.30±0.24	1.23±0.11	1.36±0.09	1.06±0.04	3.65±0.15	0.58±0.09	7.60±0.77	18.18±1.70	15.60±0.70	41.38±0.76	3.44±0.47
	60	8.39±0.76	0.83±0.04	5.36±0.20	1.03±0.12	1.34±0.15	0.95±0.06	3.32±0.25	0.62±0.05	8.08±1.10	20.68±1.20	16.99±0.82	45.75±1.14	4.64±0.12
P														
— — — — — — — — — — — — — *														
7	27	0.17±0.03	1.44±0.05	4.14±0.25	2.62±0.15	3.11±0.17	2.06±0.18	7.79±0.33	0.79±0.09	14.72±0.96	38.40±2.44	31.26±2.91	84.38±5.35	6.54±0.17
	60	0.09±0.04	1.08±0.03	4.15±0.16	2.16±0.16	2.85±0.14	1.88±0.13	6.90±0.25	0.77±0.05	17.14±0.70	40.34±2.20	37.12±2.26	94.60±2.04	6.76±0.32
P														
— *** — — — — — — — — — — — — —														

n=5, (***: P < 0.001; *: P < 0.05; —: önemli değil).
n=5, (***: P < 0.001; *: P < 0.05; —: non significant).

Table 3. Effect of breeder age and energy restriction on relative yolk sac weight (%) at 14 day of age in broilers.
Table 3. Etçi piliçlerde damızlık yaşı ve enerji kısıtlamasının 14 günlük yaşta relatif yumurta sarı kesesi ağırlığına etkisi.

Yaş (gün)	Damızlık yaşı (hafta)	Rasyon	Sarı kesesi ağırlığı (%)
14	27	E	0.05
		K	0.06
	60	E	0.04
		K	0.07
G.S.H.			0.010
P			
Damızlık yaşı			NS
Rasyon			*

E: Enerji kısıtlaması uygulanan grup, K: Kontrol grubu. n= 5, (*: P < 0.05; —: önemli değil). G.S.H: Genel standart hata.
E: Energy restricted group, K: Control group. n = 5, (*: P < 0.05; —: non significant). G.S.H: Pooled SEM.

Tablo 4. Etçi piliçlerde damızlık yaşı ve enerji kısıtlamasının 14 - 42. günler arasında mide-bağırsak kanalı relatif ağırlıklarına etkisi (%).**Table 4.** Effects of breeder age and and energy restriction on relative gastrointestinal tract weights (%) from 14 to 42 days of age in broilers.

Yaş (gün)	Damızlık yaşı (hafta)	Rasyon grupları	Bezli mide (%)	Kaslı mide (%)	Duodenum (%)	Jejunum (%)	İleum (%)	Toplam İnce bağırsak (%)	Sekum (%)
14	27	E	0.72	3.66	2.40	2.51	2.07	6.99	0.69
		K	0.87	3.04	2.40	2.69	2.43	7.52	0.78
	60	E	0.74	3.39	2.17	2.83	2.35	7.35	0.73
		K	0.74	3.61	1.87	2.40	1.96	6.23	0.81
	P	Damızlık yaşı	0.023	0.076	0.095	0.113	0.078	0.185	0.040
		Rasyon grubu	—	—	—	—	—	—	—
21	27	E	0.58	2.78	1.97	1.93	1.94	5.84	0.63
		K	0.70	2.80	1.84	2.32	2.17	6.33	0.62
	60	E	0.51	2.36	1.51	2.10	1.83	5.45	0.66
		K	0.60	2.60	1.54	1.68	1.58	4.80	0.54
	P	Damızlık yaşı	0.018	0.077	0.047	0.080	0.049	0.135	0.027
		Rasyon grubu	*	—	***	—	**	**	—
28	27	E	0.43	2.29	1.03	1.78	1.37	4.19	0.53
		K	0.43	2.05	1.01	1.67	1.41	4.08	0.45
	60	E	0.38	2.25	0.89	1.92	1.52	4.32	0.44
		K	0.43	1.73	0.93	1.85	1.68	4.46	0.75
	P	Damızlık yaşı	0.012	0.050	0.040	0.044	0.032	0.074	0.018
		Rasyon grubu	—	—	—	—	**	—	**
35	27	E	0.31	1.72	0.70	1.46	1.34	3.50	0.60
		K	0.37	1.86	0.89	1.63	1.50	4.01	0.67
	60	E	0.35	1.61	0.71	1.31	1.11	3.12	0.62
		K	0.41	1.79	0.93	2.00	1.73	4.66	0.83
	P	Damızlık yaşı	0.01	0.07	0.03	0.05	0.04	0.09	0.03
		Rasyon grubu	—	—	—	—	—	—	—
42	27	E	0.36	1.76	0.48	1.34	1.10	2.91	0.60
		K	0.29	1.34	0.49	1.12	1.08	2.70	0.39
	60	E	0.32	1.66	0.48	1.36	1.26	3.10	0.48
		K	0.30	1.65	0.49	0.92	0.81	2.22	0.45
	P	Damızlık yaşı	0.014	0.063	0.026	0.055	0.050	0.123	0.021
		Rasyon grubu	—	—	—	—	—	—	—

E: Enerji kısıtlaması uygulanan grup, K: Kontrol grubu. n = 5, (***: P < 0.001; **: P < 0.01; *: P < 0.05; —: önemli değil). G.S.H: Genel standart hata
E: Energy restricted group, K: Control group. n = 5, (***: P < 0.001; **: P < 0.01; *: P < 0.05; —: non significant). G.S.H: Pooled SEM

Tablo 5. Etçi piliçlerde damızlık yaşı ve enerji kısıtlamasının 14 - 42. günler arasında bağırsak uzunluğuna etkisi (cm).
Table 5. Effects of breeder age and diet groups on intestinal length (cm) from 14 to 42 days of age in broilers.

Yaş (gün)	Damızlık yaşı (hafta)	Rasyon grupları	Duodenum (cm)	Jejenum (cm)	İleum (cm)	Toplam İnce bağırsak (cm)	Sekum (cm)
14	27	E	28.04	46.72	50.44	125.20	9.12
		K	28.18	48.24	50.82	127.24	9.82
	60	E	28.04	51.70	58.96	138.70	10.50
		K	28.48	48.66	51.64	128.78	10.82
	G.S.H		0.605	1.610	0.980	1.833	0.159
	P	Damızlık yaşı	—	—	*	—	**
	Rasyon grubu	—	—	—	—	—	
21	27	E	36.52	50.70	58.10	145.32	11.78
		K	30.90	50.94	59.76	141.60	11.46
	60	E	33.56	56.86	63.20	153.62	13.10
		K	36.54	54.54	64.04	155.12	12.28
	G.S.H		0.477	1.173	1.096	0.234	2.177
	P	Damızlık yaşı	—	*	*	*	*
	Rasyon grubu	—	—	—	—	—	
28	27	E	29.81	70.77	66.88	167.46	15.10
		K	34.06	68.91	67.27	170.24	13.92
	60	E	36.52	80.00	77.50	194.02	16.99
		K	37.94	85.98	82.90	206.82	18.74
	G.S.H		0.951	1.463	1.674	0.308	3.295
	P	Damızlık yaşı	**	***	***	***	***
	Rasyon grubu	—	—	—	—	—	
35	27	E	34.30	74.26	82.80	191.36	17.94
		K	31.94	70.48	81.22	183.64	16.14
	60	E	32.44	74.98	81.48	188.90	19.26
		K	35.69	86.66	97.67	220.02	19.36
	G.S.H		0.887	0.909	1.495	0.603	2.510
	P	Damızlık yaşı	—	***	*	**	—
	Rasyon grubu	—	*	*	*	—	
42	27	E	28.48	81.38	80.10	189.96	19.16
		K	34.84	78.09	76.52	189.45	19.34
	60	E	28.12	90.67	84.94	203.73	20.36
		K	32.36	74.24	71.06	177.67	16.54
	G.S.H		0.627	1.564	1.158	0.575	2.640
	P	Damızlık yaşı	—	—	—	—	—
	Rasyon grubu	***	**	**	**	—	

E: Enerji kısıtlaması uygulanan grup, K: Kontrol grubu. n= 5, (***: P < 0.001; **: P < 0.01; *: P < 0.05; —: önemli değil). G.S.H: Genel standart hata.
E: Energy restricted group, K: Control group. n = 5, (***: P < 0.001; **: P < 0.01; *: P < 0.05; : — non significant). G.S.H: Pooled SEM.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Etçi piliçlerde sarı kesesi çıkımdan sonra 14. güne kadar gözlemlenmiş ve ağırlığı alınmıştır. Bu durum Yalçın ve ark. 'nın (2017) Ross 308 genotipinde 38 haftalık yaştaki damızlık sürüden elde ettikleri civcivlerde 14. güne kadar sarı kesesinin varlığını sürdürdüğü bildirimleriyle benzer olmuştur. Çıkım, 7 ve 14. günlerde sarı kesesi relatif ağırlığına damızlık yaşının etkisi önemsiz olmuştur. Bu bulgu Yalçın ve ark.'nın (2013) Ross genotipinde bildirdiği farklı damızlık yaşlarındaki civcivlerde yumurta sarısı ağırlığının benzer olduğu bulgusuyla uyusmaktadır. Araştırmada yumurta sarısı tüketimi enerji kısıtlaması grubunda belirgin derecede yüksek olmuştur. Bu durumun erken dönemde (8 - 14. günler arası) enerji kısıtlaması grubundaki civcivlerde büyüme ve gelişim için gerekli olan

enerji açığının yumurta sarısından karşılandığı şeklinde yorumlanabilir. Sklan ve Noy (2000) Ross genotipinde yaptıkları çalışmada, çıkımdan sonra erken dönem rasyondaki enerji eksikliğinin yumurta sarısından giderilebileceğini belirtmişlerdir. İlk 7 günlük dönemde damızlık yaşı, çıkımda ince bağırsak uzunluğu ve 7. gün bezli mide ağırlığı üzerine etkisi olmuş, toplam relatif ince bağırsak ağırlığını etkilememiştir. Bu bulgu, Mahmoud and Edens (2012) Ross 708 etçi piliç genotipinde yaptıkları araştırmada, 7. günde yaşlı (63 haftalık yaş) damızlık sürüden elde edilen civcivlerde ince bağırsak ağırlığının genç (31 haftalık yaş) ve orta yaşlı (40 haftalık yaş) damızlık sürülerden elde edilen civcivlere göre yüksek olduğunu bildirimleriyle uyumsuz olmuştur. Çıkım ve 7. gün arası dönemde ince bağırsak relatif büyüme hızı iki kat olmuş, bu hızlı gelişim 14. günde aynı oranda olmuş ve besinin diğer dönemlerinde azalarak devam etmiştir. Bu bulgularla etçi piliçlerde ince bağırsak gelişiminin ilk 7 günde en yüksek düzeyde olduğu ve 14. günde gelişimin tamamlandığı söylenebilir. Bu bulgular Lilja 'nın (1983) bildircin, Shanaway 'ın (1994) etçi piliçlerde ve Sell ve ark. 'nın (1991) hindi palazları ve yaptığı çalışmalardaki bildirimleriyle tam olarak uyusmaktadır. Bu çalışmalarda kanatlı türlerinde mide-bağırsak kanalı gelişimin çıkımdan sonraki ilk 7 günde en yüksek seviyede olduğunu bildirmiştir. Bazı araştırmalarda ise kanatlı türlerinde mide-bağırsak kanalının erken dönemdeki gelişiminin en yüksek olduğu, 4 - 6 güne kadar arttığı ve bu hızlı gelişimin 10. günden sonra oransal olarak azaldığı bildirilmiştir (Pinchasov ve Noy 1993, Akiba ve Murakami 1995, Uni ve ark. 1996). Araştırmadaki bulgulara göre toplam ince bağırsak ve sekum relatif ağırlığı 35. günde enerji kısıtlama grubunda kontrol grubuna göre düşük olurken, 42. günde toplam ince bağırsak ve sekum relatif ağırlığı enerji kısıtlama grubunda, kontrol grubuna göre yüksek olmuştur. İnce

bağırsak uzunluğu 35 ve 42. günlerde enerji kısıtlamasından etkilenmiştir. 35. günde yaşlı damızlıklardan elde edilen civcivlerde enerji kısıtlaması grubundaki ince bağırsak uzunluğu, kontrol grubuna göre düşük olmuştur. Bu durumun tersine 42. günde her iki damızlık yaş grubundan elde edilen civcivlerde, ince bağırsak uzunluğu enerji kısıtlama grubunda yüksek olmuştur. Olver (1995) yem kısıtlaması durumunda ince bağırsak ağırlığının arttığını ve bu durumun yaşamını sürdürülebilmek için yemdeki kısıtlı besin maddelerinin emilimini arttırmak için bir adaptasyon mekanizması olduğunu bildirmiştir. 35. günde enerji kısıtlama grubunda düşük olan relatif ince bağırsak ve sekum ağırlıkları ile ince bağırsak uzunluğu değerlerinin 42. günde enerji kısıtlama grubunda yüksek olma durumu, erken dönem düşük enerji ile beslenen etçi civcivlerde bu adaptasyon mekanizmasının, besi döneminin son haftasında ortaya çıktığını düşündürmektedir. Leeson ve ark. (1996) ise besinin son döneminde etçi piliçlerde sindirim sisteminin enerji kısıtlamasına adaptasyon sağlayabileceğini belirtmiştir. Araştırmada rasyondaki düşük enerji düzeyinin, etçi piliçlerde adaptasyon mekanizması olarak bağırsak relatif ağırlığının ve ince bağırsak uzunluğunun artmasına neden olduğu düşünülmektedir. Yapılan diğer araştırmalarda, kanatlı sindirim sisteminin iki bölgesinde geriye akış (reflü) mekanizmasının bulunduğunu, bunlardan ilkinin, içeriğin bağırsaklarda kalış zamanını arttıran ve saatte dört defa oluşan, duodenum ve jejunumdan mideye doğru geriye akış ve ikincisinin idrar nitrojenini kolon aracılığıyla sekuma ileten geriye akış mekanizması olduğu bildirilmiştir. İkinci fizyolojik mekanizmanın protein geri kazanımını arttırmaya yaradığı ve özellikle yemde düşük protein olduğu durumlarda oluştuğu belirtilmiştir (Karasawa 1999, Zaefarian ve ark. 2016). Araştırmada erken dönemde yemdeki enerji düzeyinin düşük olma durumu içeriğin bağırsaklarda kalma süresini arttıran adaptasyon mekanizmasını harekete geçirmiş olabilir, ayrıca yemdeki düşük enerjiden yararlanmak amacıyla içerik daha fazla sekumda kalmış olabilir. Böylece gün içindeki ince bağırsak ve sekum kasılmaları yoğunlaşmış ve bu da organların fazla çalışıp relatif ağırlığının artmasıyla sonuçlanmış olabilir. İnce bağırsak uzunluğu, çıkım - 7. gün ve 7 - 14. günler arasında sırasıyla 2 kat ve 1,5 kat artmış ve yaşla birlikte artış göstermiştir. Bu bulgular Iji ve ark. 'nın (2001) Stegges x Ross (F₁) genotipi civcivlerde yaptığı araştırmadaki, ince bağırsak uzunluğunun yaşla birlikte arttığı bildirimleriyle uyusmaktadır. Sonuç olarak, etçi civcivlerde relatif sarı kesesi ağırlığının damızlık yaşından etkilenmediği, sarısı kesesinin 14. güne kadar oransal olarak azalarak varlığını sürdürdüğü ve erken dönemde enerji kısıtlaması olan gruptaki civcivlerde yumurta sarısı emiliminin

kontrol grubuna göre daha yüksek oranda şekillendiği belirlenmiştir. İnce bağırsak gelişiminin 7. günde en yüksek seviyede olduğu ve 14. günde tamamlandığı, erken dönem enerji kısıtlamasının rasyon adaptasyonuna bağlı olarak mide - bağırsak kanalında morfolojik değişiklikler meydana getirdiği belirlenmiştir. Bu adaptasyon sürecinin relatif bezli mide ağırlığını azalttığı, relatif ince bağırsak ağırlığı ve ince bağırsak uzunluğu ile relatif sekum ağırlığını arttırdığı tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

- AOAC.** Official Methods of Analysis of AOAC International. AOAC International, 17th ed. 2000; Rockville, MD, USA.
- Akiba Y, Murakami H.** Partitioning of energy and protein during early growth of broiler chicks and contribution of vitelline residue, In: Proceedings of the 10th European Symposium on Poultry Nutrition, Antalya, Turkey, WPSA. 1995; pp. 44-52.
- Atasoy F, Yakan A, Uğurlu M, Ünal N, Aksu T, Cengiz S.** Carcass composition, meat quality and antibody levels in male and female broiler chickens reared on low dietary protein. *Vet J Ankara Univ.* 2010; 57: 49-54.
- Carpenter KJ, Clegg KM.** The metabolizable energy of poultry feedingstuffs in relation to their chemical composition. *J Sci Food Agric.* 1956; 7: 45-51.
- Dawson B, Trap R.** Basic and clinical biostatistics. Lange Medical Books/McGraw-Hill, 3rd ed. 2001; New York, USA.
- Dibner JJ, Richards JD.** The digestive system: Challenges and opportunities. *J Appl Poult Res.* 2004; 13: 86-93.
- Iji PA, Saki A, Tivey DR.** Body and intestinal growth of broiler chicks on a commercial starter diet. I. intestinal weight and mucosal development. *Brit Poult Sci.* 2001; 42: 505-513.
- Karasawa Y.** Significant role of the nitrogen recycling system through the ceca occurs in protein-depleted chickens. *J Exp Zool.* 1999; 283: 418-425.
- Leeson S, Caston L, Summers JD.** Broiler response to energy or energy and protein dilution in the finisher diet. *Poult Sci.* 1996; 75: 522-528.
- Lilja C.** A comparative study of postnatal growth and organ development in some species of birds. *Growth.* 1983; 47: 317-339.
- Mahmoud KZ, Edens FW.** Breeder age affects small intestine development of broiler chicks with immediate or delayed access to feed. *Brit Poult Sci.* 2012; 53: 32-41.
- Noy Y, Sklan D.** Yolk utilisation in the newly hatched poult. *Brit Poult Sci.* 1998; 39: 446-451.
- Noy Y, Geyra A, Sklan D.** The effect of early feeding on growth and small intestinal development in the posthatch poult. *Poult Sci.* 2001; 80: 912-919.
- NRC.** Nutrient Requirements of Poultry. National Academy Press, 9th rev. ed. 1994; Washington, DC, USA.
- Olver MD.** Effect of restricted feeding during the rearing period and a "forced moult" at 40 weeks of production on the productivity of Pekin breeder ducks. *Brit Poult Sci.* 1995; 36: 737-746.
- Picard M, Siegel PB, Letterrier C, Geraert PA.** Diluted starter diet, growth performance, and digestive tract development in fast-and slow-growing broilers. *J Appl Poult Res.* 1999; 8: 122-131.
- Pinchasov J, Noy Y.** Early postnatal amylolysis in the gastrointestinal tract of turkey poult (Meleagris gallopavo). *Comp Biochem Physiol.* 1993; 106: 221-225.
- Samanya M, Yamauchi K.** Morphological changes of the intestinal villi in chickens fed the dietary charcoal powder including wood vinegar compounds. *J Poult Sci.* 2001; 38: 289-301.
- Schaefer CM, Corsiglia CM, Mireles A, Koutsos EA.** Turkey breeder hen age affects growth and systemic and intestinal inflammatory responses in female poult examined at different ages posthatch. *Poult Sci.* 2006; 85: 1755-1763.
- Sell JL, Angel CR, Piquer FJ, Mallarino EG, Al-Batshan HA.** Developmental patterns of selected characteristics of the gastrointestinal tract of young turkeys. *Poult Sci.* 1991; 70: 1200-1205.
- Shamoto K, Yamauchi K.** Recovery responses of chick intestinal villus morphology to different refeeding procedures. *Poult Sci.* 2000; 79: 718-723.
- Shanaway MM.** Body weight in relation to the development of the gastrointestinal tract in broilers. *Arch Geflügelk.* 1994; 58: 66-68.
- Sklan D.** Development of the digestive tract of poultry. *World Poultry Sci J.* 2001; 57: 415-428.
- Sklan D.** Early nutrition and its effect on lifelong productivity in poultry, In: Conference

- Proceedings of the Recent Advances in Animal Nutrition (RAAN), 2003; pp: 75-79.
- Sklan D, Noy Y.** Hydrolysis and absorption in the small intestines of posthatch chicks. *Poult Sci.* 2000; 76: 1306-1310.
- SPSS.** Statistical Package in Social Science for Windows. Statistical Innovations Inc. 2001. (Serial Number 9869264).
- Uni Z, Geyra A, Ben-Hur H, Sklan D.** Small intestinal development in the young chick: Crypt formation and entero-cyte proliferation and migration. *Brit Poult Sci.* 2000; 41: 544-551.
- Uni Z, Noy Y, Sklan D.** Developmental parameters of the small intestines in heavy and light strain chicks preand post-hatch. *Brit Poult Sci.* 1996; 36: 63-71.
- Uni Z, Tako E, Gal-Garber O.** Morphological, molecular and functional changes in the chicken small intestine of the late-term embryo. *Poult Sci.* 2003; 82: 1747-1754.
- Yadgary L, Cahaner A, Kedar O, Uni Z.** Yolk sac nutrient composition and fat uptake in late-term embryos in eggs from young and old broiler breeder hens. *Poult Sci.* 2010; 89: 2441-2452.
- Yalçın S, İzzetoglu GT, Aktaş A.** Effects of breeder age and egg weight on morphological changes in the small intestine of chicks during the hatch window. *Brit Poult Sci.* 2013; 54: 810-817.
- Yalçın S, Gürsel I, Bilgen G, Horuluoğlu BH, Güçlüer G, İzzetoglu G.** Effect of egg storage duration and brooding temperatures on chick growth, intestine morphology and nutrient transporters. *Animal.* 2017; pp. 1-7. doi: 10.1017/S175173111500261X.
- Yamauchi K, Yamamoto K, Isshiki Y.** Morphological alterations of the intestinal villi and absorptive epithelial cells in each intestinal part in fasted chickens. *Japanese Poult Sci.* 1995; 32: 214-251.
- Yang H, Yang Z, Wang Z, Wang W, Huang K.** Effects of early energy and protein dilution on growth performance, nutrient utilization and internal organs of broilers. *Ital J Anim Sci.* 2015; 14: 163-171.
- Zaefarian F, Abdollahi MR, Ravindran V.** Particle size and feed form in broiler diets: Impact on gastrointestinal tract development and gut health. *Worlds Poult Sci J.* 2016; 72: 277-290.

Deve Kuşlarından İzole Edilen İshal Etkenleri

A. Ebru BORUM*

Balikesir Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, BALIKESİR.

*Corresponding author e-mail: ebruborum@balikesir.edu.tr

ÖZ

Bu çalışmada ishalleri devekuşlarından alınan fekal svaplardan etken izolasyonu yapmak amaçlandı. Toplam 42 ishalleri devekuşundan fekal örnekler alındı. Örneklerden 38 (%90,47) tanesi saf kültür, 4 (%9,52) karışık kültür olarak üredi. İzole edilen etkenler, 26 (%61,9) *Escherichia coli*, 14 (%33,33) *Campylobacter jejuni*, 4 (%9,52) *Aeromonas hydrophila*, 2 (%4,76) *Aeromonas sobria* olarak belirlendi.

Anahtar Kelime: Devekuşu, Dışkı svap, İshal.

Isolation of Agents of Diarrhea in Ostriches

ABSTRACT

In this study, it was aimed to isolate microorganisms from the fecal swab specimens from ostriches with diarrhea. A total of 42 fecal samples were collected from ostriches with diarrhea. The organisms were isolated in pure culture from 38 (90.47%) samples and were isolated in mixed culture from 4 (9.52%) samples. A total of 4 strains were isolated from the 42 fecal samples. Of the strains isolated, 26 (61.9%) were identified as *Escherichia coli*, 14 (33.33%) as *Campylobacter jejuni*, 4 (9.52%) as *Aeromonas hydrophila*, 2 (4.76%) as *Aeromonas sobria*.

Key Words: Ostriches, Fecal swab, Diarrhea.

GİRİŞ

Ülkemizde devekuşu endüstrisi son dönemlerde yaygınlık kazanmış, bazı dönemlerde karlı bir yatırım aracı bazı dönemlerde ise durgun bir dönem izlemiştir. Tüden sonra et, deri ve yumurta gibi devekuşu ürünlerinde pazar gelişmiştir. Özellikle ürünlerin seçkinliği ve damızlık materyalin kısıtlı olması nedeniyle fiyatlar artmış ve devekuşu yetiştiriciliği karlı bir hale gelmiştir. Bu nedenle devekuşu hastalıkları ile ilgili bilgiye ihtiyaç duyulmaktadır. Ancak devekuşlarının hastalıkları konusunda bilgiler sınırlıdır. Devekuşu eti, tüketimi olması nedeniyle önem taşımaktadır. Devekuşlarının ishalleri bazı zoonotik etkenlerin ete geçmesi nedeniyle de önemlidir. Devekuşlarından insanlara hastalık bulaşabilmektedir. Bulaşma sağlıklı veya hastalıklı hayvanlarla temas ve devekuşu etlerinin ellenmesi ve yenilmesi ile oluşabilir (Arda ve ark. 2002). Enteritiserler özellikle genç devekuşu civcivlerinde sık görülmekte olup diare ve depresyona sebep olmaktadır. *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni* ve *Pseudomonas aeruginosa* en sık karşılaşılan etkenlerdir. *Escherichia coli*, insan ve hayvanların normal bağırsak florasında bulunmakla birlikte, birçok hastalık vakasından primer veya sekonder etken olarak izole edilmektedir (Emery ve ark. 1992; Gülhan 2003). Kontamine çevre kaynakları (bitki örtüsü, toprak ve su) doğumdan hemen sonra etkene maruz kalmaya sebep olur (Quinn ve ark. 2011). Patojenik *E. coli*'ler insan ve hayvanlarda gastroenteritis, ürogenital ve pleural hastalıklar ile septisemiye sebep olurlar (Caprioli 2000). Devekuşlarından sıklıkla *E. coli* devekuşlarından izole edilmesine karşın intestinal patojen olarak araştırmalar sınırlıdır. Altı tip *E. coli* intestinal hastalıklara ve diareye sebep olur. Enterotoksijenik (ETEC), Enteropatojenik (EPEC), Enteroinvazif (EIEC), Enterohemorajik (EHEC), Enteroagregatif ve Difüz adherenttir (Levine 1987; Kaper 1998). Yapılan bir çalışmada klinik olarak enteritis bulguları olan devekuşu civcivlerinden sadece ETEC izole edilmiştir (Nardi ve ark. 2005). Farklı *Salmonella* serotipleri özellikle devekuşu yavrularında enteritise sebep olmaktadır. Sıklıkla diare ve ani ölüm şekillenir. Diğer bazı olaylarda sadece spesifik bulgular olmadan anoreksi ve depresyon şekillenebilir (Welsh ve ark. 1997). Devekuşlarında enteritis ve diare oluşturan *Salmonella Pullorum*, *Salmonella Gallinarum*, *Salmonella Typhimurium* ve *Salmonella Ituri*'dir (Welsh ve ark. 1997a; Welsh ve ark. 1997b; Huchzermeyer 1998). *Campylobacter* spp. bakteriyel zoonotik gastroenteritisin önde gelen sebeplerindedir (Raissy 2014). İnsanlardaki infeksiyonlardan %95'i *Campylobacter jejuni* veya *Campylobacter coli* kaynaklıdır. Özellikle devekuşu etleri bulaşmada önem taşımaktadır. (Lastovica ve Skirrow 2000; Butzler 2004). Çalışmalar çiftliklerden kanatlı etine

bulaşmanın oldukça yüksek olduğunu, perakende kanatlı eti ile bulaşma oranının %40-90 oranında olduğunu göstermiştir. Etlere bulaşma intestinal içerik, alet, ekipman, su ve hayvandan hayvana olabilmektedir (Corry ve Atabay 2001; Hussain ve ark. 2007; Suzuki ve Yamamoto 2009).

Aeromonas büyükbaş ve küçükbaş hayvanlarda %0.5-62.5, kanatlılarda ise %0-29 arasında izole edilmiştir. Hayvanlardaki *Aeromonas* spp. varlığı yem ve sularında etkenin bulunması ile ilişkilidir. Etkeni taşıyan hayvanlarda genellikle klinik bulgu görülmez. Ancak yapılan bir çalışmada sulu ishali bulunan devekuşlarından etken izole edilmiştir (D'Aloia ve ark. 1996; Ghenghesh ve ark. 1999; Mansour ve ark. 2014). Bu çalışmada ishal görülen devekuşlarından dışkı svapları alınarak etken izolasyon ve identifikasyonu yapılmıştır.

MATERYAL VE METOT

İshal görülen devekuşlarından her hayvan için bir adet örnek olacak şekilde fekal svap alındı. Bunun yanı sıra hayvanlara daha önce tedavi yapılmamış olmasına dikkat edildi. Daha sonra svaplar soğuk zincire dikkat edilerek laboratuvara ulaştırıldı.

İzolasyon: Dışkı örneklerinden kanlı agar (Merck 1.10886), ampicilinli kanlı agar, campylobacter agar (Oxoid CM0689), EMB agar (Oxoid CM0069), XLD agar (Oxoid CM0469) ve brilliant green agara (Oxoid CM 0263) ekim yapıldı.

***Aeromonas*:** Steril svap ile kloakadan örnek alındı. Alınan örnekler 1-2 saat içinde laboratuvara ulaştırıldı. Alkalin peptonlu suya (pH 8.4) konarak 28 °C'de 18-24 saat bekletildi. 10 mg/lit Ampisilin içeren Ampisilinli Kanlı Agar'a ekim yapıldı. 37 °C'de 24 saat aerobik koşullarda inkube edildi. Oksidaz ve Katalaz pozitif olan koloniler TSB'ye ekilerek 37 °C'de 24 saat inkube edildi (Akan ve ark. 1996).

***Campylobacter*:** Selektif suplement ile hazırlanan Campylobacter Agar'a ekim yapıldı. Mikroaerofilik koşullarda 1-2 gün, 37-42°C'de inkube edildi. S-tipli, hemolizsiz koloniler boyandı. Tipik şekilli bakterilere biyokimyasal testler uygulandı (Siemer ve ark. 2005; Rahimi ve ark. 2011; Ling ve ark. 2012).

***Salmonella*:** Svap Tetrathionat Broth'da (TTB) bekletildi ve 41°C'de 24 saat inkube edildi. İnkubasyon sonrası her bir TTB'den XLD, Brilliant Green Agar'a ekim yapıldı. 37°C'de aerobik şartlarda 24 saat inkube edildi. İlk ekim yapılan TTB oda ısısında 5 gün bekletildi. İnkubasyon sonrası bu broth'dan 1 ml alınıp taze TTB'ye geçirildi. 37 °C'de aerobik koşullarda 24 saat inkube edildi. Daha sonra tekrar XLD ve Brilliant Green Agar'a ekim yapıldı.

BULGULAR

37 °C'de aerobik koşullarda 24 saat inkube edildi (Neto ve ark. 2009; Rahimi ve ark. 2010; Díaz-Sánchez ve ark. 2012). Dışkı örneklerinde *E.coli* izolasyonu amacıyla EMB ve %5 defibrine koyun kanlı agar kullanıldı (Gülhan 2003).

İdentifikasyon: İzole edilen etkenler konvansiyonel yöntemler ile tanımlanmıştır. Ampisilinli Kanlı Agar'da üreyen *Aeromonas* şüpheli koloniler gram yöntemi ile boyandı. Gram negatif basillerin kolonileri TSB'ye ekilerek 37 °C'de aerobik koşullarda inkube edildi. Daha sonra etkene lam lamel arası hareket muayenesi yapıldı. Hareketli mikroorganizmalara katalaz, oksidaz, H₂S, eskulin, %6 NaCl 'de üreme, salisin, mannitol, MR, VP, nutrient buyyonda üreme, hemoliz, arabinoz, oksidasyon-fermentasyon ve indol testleri uygulandı (Akan ve ark. 1996). *Campylobacter* Agar'da üreyen kolonilere gram boyama yapıldı. Tipik şekilli olanlara oksidaz, katalaz, H₂S, Na hippurat, %3.5 NaCl'de üreme, %1 glisin, nitrat, nitrit, indol, nalidiksik asit ve cephalothin duyarlılık testleri yapıldı (Siemer ve ark. 2005; Rahimi ve Ameri 2011; Ling ve ark. 2012). EMB Agar'da refle veren kolonilerin identifikasyonunda Sulfit Indol-Motility medium (SIM), Ürea Agar Base, Bacto Nitrat Buyyon, Triple Sugar Iron Agar (TSI), Methyl-Red Voges Proskauer Medium (MR-VP), Simmons Citrate Agar'dan yararlanıldı (Gülhan 2003).

Kültür Sonuçları: Toplam 42 ishali deve kuşundan fekal örnekler alındı. Örneklerden 38 (%90,47) tanesi saf kültür, 4 (%9,52) karışık kültür olarak üredi. İzole edilen etkenler, 26 (%61,9) *Escherichia coli*, 14 (%33,33) *Campylobacter jejuni*, 4 (%9,52) *Aeromonas hydrophila*, 2 (%4,76) *Aeromonas sobria* olarak belirlendi. *Salmonella* spp. üremesi olmadı.

İdentifikasyon Sonuçları: *Campylobacter* spp. şüpheli kültürlerle uygulanan biyokimyasal testlerin sonuçları Tablo 1'de sunulmuştur. Oksidaz, katalaz, Na hippurat, %1 glisin, nitrat testleri tüm suşlar için pozitif, H₂S, %3.5 NaCl, nitrit ve indol için ise negatif olarak saptandı. Tüm suşlar cephalothin'e dirençli, nalidiksik asit'e ise duyarlı olduğu belirlendi. *Aeromonas* şüpheli suşlara uygulanan biyokimyasal testler Tablo 2'de gösterilmiştir. Şüpheli kolonilere uygulanan hareket, mannitol, indol, oksidaz, nutrient buyyonda üreme, hemoliz tüm suşlarda pozitif çıkmıştır. İdentifikasyon sonucu *A. sobria* olarak tanımlanan 2 suşda eskulin, salisin, VP, H₂S, arabinoz negatif, *A. hydrophila* olarak tanımlanan 4 suşda ise bu testler pozitif olarak belirlendi. Tüm suşlarda %6 NaCl'de üreme negatifti. Oksidasyon-Fermentasyon testi ise tüm suşlarda fermentatif olarak belirlendi.

Tablo 1. *Campylobacter* şüpheli örneklerden elde edilen biyokimyasal test sonuçları
Table 1. Biochemical tests *Campylobacter* suspected samples

Testler	Devekuşu Örnekleri													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D1	D2	D3	A2
Oksidaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Na Hippurat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
%3.5 NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
%1 Glisin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nitrat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nitrit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nalidiksik Asit	S*	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Cephalothin	R**	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Indol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*Duyarlı **Dirençli

Tablo 2. *Aeromonas* şüpheli örneklerden elde edilen biyokimyasal test sonuçları
Table 2. Biochemical tests of samples with suspected of *Aeromonas*

Testler	Devekuşu Örnekleri					
	A8-1	A10	P1	P8	P13	Yavru
Hareket	+	+	+	+	+	+
Eskulin	+	+	-	-	+	+
Salisin	+	+	-	-	+	+
Mannitol	+	+	+	+	+	+
Indol	+	+	+	+	+	+
Mr	-	-	+	+	-	-
Vp	+	+	-	-	+	+
H ₂ S	+	+	-	-	+	+
Oksidaz	+	+	+	+	+	+
%6 NaCl'de Üreme	-	-	-	-	-	-
Nutrient Buyyonda Üreme	+	+	+	+	+	+
Hemoliz	+	+	+	+	+	+
Arabinoz	+	+	-	-	+	+
O/F	F*	F	F	F	F	F

*Fermentatif

TARTIŞMA

Devekuşlarının hastalıkları ile ilgili bilgiler kolay elde edilememektedir. Bunun nedeni coğrafi sınırlamalar ve endüstri gelişiminin sürekli değişmesidir. Devekuşu yetiştiriciliğinde ekonomik konular çok önemlidir. Yeni hastalıkların tanınması ve tanımlanması oldukça önemlidir. Ülkemizde de devekuşu ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır (Arda ve ark. 2002).. Yapmış olduğumuz bu çalışmada devekuşlarından izole edilen ve insan sağlığı açısından da tehlike arz edebilecek ishal etkenlerini belirledik *E. coli*, insan ve hayvanların çeşitli enfeksiyonlarında primer veya sekonder etken olarak sorumlu tutulmaktadır (Arda ve ark. 1984; Erganiş 1991). *E. coli* enteritisli devekuşlarından en fazla izole edilen etkindir (Verwoerd ve ark. 1998). Enteritisli 122 devekuşunda yapılan bir çalışmada *E. coli* %49 oranında en fazla izole edilen etken olarak saptanmıştır (Keokilwe ve ark. 2015). Yapılan diğer bir çalışmada 120 devekuşu yumurtasının 24'ünden *E. coli* izole edilmiştir (Rezaei Far ve ark. 2013). Yirmi üç adet hasta ve ölen devekuşu yavrularının 11'inde primer etken olarak *E. coli* izole edilmiştir (El-Banna ve ark. 2011). Bizim çalışmamızda da ishalleri devekuşlarında en fazla izole edilen etken *E. coli* olarak saptanmış ve izole edilen *E. coli* 'lerin 4'ü karışık, 22'sinde ise saf kültür olarak üremiştir. *Campylobacter* spp. insan gastroenteritislerinden sorumludur. Devekuşu eti tüketimi nedeniyle bu etkenin izolasyonu önemlidir (Ling ve ark. 2012). . Çalışmamızda 14 svap örneğinin 13'ünde saf kültür olarak, 1'inde ise *E. coli* ile birlikte üremiştir. Sağlıklı 31 devekuşunda yapılan deri ve kloakal svap izolasyonunda 1 (%1.6) kloakal svaptan *Campylobacter* spp., 1 deri, 1 koakal svaptan ise *Salmonella* spp. elde edilmiştir. İnsan, kanatlı fekal ve kloakal svaptan oluşan 798 örneğin 312'si (%39)

Campylobacter spp. pozitif olarak bulunmuştur. Kanatlılardan izole edilen *Campylobacter* türleri %19 *C. jejuni*, %52 *C. coli* ve %29 *C. lari* olarak tanımlanmıştır (Nwankwo ve ark. 2016). Bizim çalışmamızda izole edilen örneklerde *C. jejuni* oranının daha yüksek olması devekuşlarında bu etkenin daha fazla bulunmasından kaynaklanabilir. İran'da yapılan bir çalışmada 494 kanatlı eti incelenmiş ve devekuşu etlerinin %4.8'inin *Campylobacter* spp. ile kontamine olduğu belirlenmiştir (Rahimi ve Ameri 2011). Sekiz yüz kanatlı eti örneği incelenmiş, 337'sinde (%47,1) *Campylobacter* spp. rastlanmıştır. Devekuşu etinde ise %11.7 olarak bulunmuştur. İzole edilen türlerin %76,4'ü *C. jejuni*, %23,6'sı ise *C. coli* olarak tanımlanmıştır (Rahimi ve Tajbakhsh 2008). *C. jejuni*'nin en yüksek oranda tanımlanması bizim sonuçlarımızla da uyumludur. Klinik olarak sağlıklı görülen 150 devekuşundan alınan kloakal svap örneklerinden 60'ında *Campylobacter* spp. üremiş, 48 tanesi *C. jejuni* olarak tanımlanmıştır. *C. coli* ve *C. lari* ise hiç izole edilmemiştir. Bu durum da sağlıklı görülen devekuşlarının potansiyel *Campylobacter* spp. taşıyıcısı olabileceğini göstermektedir (Cuomo ve ark. 2007). Devekuşlarında *Aeromonas* spp. ile ilgili çalışmaya rastlanmadığı, sadece teorik bilgilerin bulunması nedeniyle karşılaştırma yapılamamıştır. Bizim çalışmamızda 4 örnekte *A. hydrophila*, 2 örnekte ise *A. sobria* üremiştir.

SONUÇ

Gerçekleştirilen bu çalışma sonunda devekuşu ishallerinden başlıca sorumlu olarak *E. coli*, *C. jejuni*, *A. hydrophila* ve *A. sobria* etkenlerinin izole edildiği belirlenmiştir. Bu etkenlerden bazıları zoonoz olması ve insan gastroenteritislerinden sorumlu

olması nedeniyle önem taşımaktadır. Bu konuda yapılan çalışmalar yeterli değildir. Bu alanda yeni ve daha geniş çalışmalara ihtiyaç duyulduğu bir gerçektir.

KAYNAKLAR

- Akan M, Diker KS, Koçak C, Yıldırım M, Bozkurt Ş.** Çiğ süttten hareketli *Aeromonas* türlerinin izolasyonu. *Gıda*. 1996; 21(5): 383-386.
- Arda M, İzgür M, Akay Ö.** Septisemili piliçlerden izole edilen *Escherichia coli* suşlarının bazı biyokimyasal ve patojenite özellikleri üzerinde bir araştırma. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*. 1984; 30: 407-419.
- Arda M, Minbay A, Aydın N, Akay Ö, İzgür M, Yardımcı H., Esendal ÖM, Erdeğer J, Akan M.** Kanatlı hayvan hastalıkları. Medisan Yayınevi, Ankara, 2002.
- Banna HIR, El-Shafei AA, Gammora NA.** Some bacteriological studies on mortality in ostrich chick Proc. of the 4th Animal Wealth Research Conf. in the Middle East & North Africa.
- Butzler JP (2004).** *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. *Clin Microbiol Infect*. 2011; 10: 868-876.
- Corry JE, Atabay HI.** Poultry as a source of *Campylobacter* and related organisms. *J Appl Microbiol*. 2001; 90: 96-114.
- Cuomo A, Dipineto L, Santaniello A, Matteoli G, Sarli T, Vecchia DD, Fioretti A, Menna LF.** Detection of thermotolerant *Campylobacter* in ostriches (*Struthio camelus*) in Italy *Vet J*. 2007; 174: 439-441.
- D'Aloia MA, Bailey TA, Samour JH, Naldo J, Howlett JC.** Bacterial flora of captive houbara (*Chlamydotis undulata*), kori (*Ardeotis kori*) and rufous-crested (*Eupodotis ruficrista*) bustards. *Avian Pathol*. 1996; 25: 459-468.
- Díaz-Sánchez S, Moriones AM, Casas F, Höfle U.** Prevalence of *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. and *Campylobacter* sp. in the intestinal flora of farm-reared, restocked and wild red-legged partridges (*Alectoris rufa*): is restocking using farm-reared birds a risk? *Eur J Wildl Res*. 2012; 58: 99-105.
- Emery DA, Nagaraja KV, Shaw DP, Newman JA, Eells DG.** Virulence factors of *Escherichia coli* associated with colisepticemic chickens and turkeys. *Avian Dis*. 1992; 36: 504-511.
- Erganiş O.** Hindilerin fekal florısından izole edilen *Escherichia coli* suşlarının bazı patojenite özellikleri üzerinde incelemeler. *Veterinarium*. 1991; 3: 2-12.
- Far RA, Peighambari SM, Sadrzadeh A, Askari BM.** Bacterial contamination of dead-in-shell embryos in ostrich hatcheries and antimicrobial resistance patterns of isolated *Escherichia coli*. *Iran J Vet Med*. 2013; 7(3): 169-175.
- Ghenghesh KS, Abeid SS, Jaber MM, Ben-Taher S.** Isolation and haemolytic activity of *Aeromonas* species from domestic dogs and cats. *Comp Immunology Microbiol Infect Dis*. 1999; 22: 175-179.
- Gülhan T.** Sağlıklı görünen hayvanların dışkılarından izole edilen *Escherichia coli* suşlarının biyokimyasal, enterotoksijenik ve verotoksijenik özelliklerinin belirlenmesi *YYÜ Vet Fak Derg*. 2003; 14 (1): 102-109.
- Huchzermeyer FW.** Diseases of ostriches and other ratites. *Promedia*, 1998; 25-162.
- Hussain I, Mahmood MS, Akhtar M, Khan A.** Prevalence of *Campylobacter* species in meat, milk and other food commodities in Pakistan. *Food Microbiol*. 2007; 24: 219-222.
- Kaper B.** Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev*. 1998; 11: 142-201.
- Keokilwe AO, Burger WP, Joubert H, Venter EH, Morar-Leather D.** Bacterial enteritis in ostrich (*Struthio Camelus*) chicks in the Western Cape Province, South Africa L. *Poultry Sci*. 2015; 94: 1177-1183.
- Lastovica A, Skirrow M.** Clinical significance of *Campylobacter* and related species other than *Campylobacter jejuni* and *C. coli*. In I. Nachamkin, & M. J. Blaser (Eds.), *Campylobacter* (2nd ed, pp. 89-120), ASM Press, Washington, DC. 2000.
- Levine MM.** *Escherichia coli* that cause diarrhea: Enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. *J Infect Dis*. 1987; 155: 377-389.
- Ling YE, Saleha AA, Jalila A.** Detection of campylobacter and *Salmonella* in ostrich *J Vet Malaysia*. 2012; 24 (1-2): 6-8.
- Mansour AMA, Zaki HM, Hassan NA, El-Nashar NAM.** Phenotyping, virulence characteristics of *Aeromonas* species and the effects of essential plant oils as antimicrobial agents against pathogenic isolates from different sources. *Am J Infect Dis*. 2014; 10: 21-35.

- Nardi ARM, Salvadori MR, Coswig LT, Gatti MSV, Leite DS, Valadares GF, Neto MG, Shocken-Iturrino RP, Blanco JE, Yano T.** Type 2 heat-labile enterotoxin (LT-II)-producing *Escherichia coli* isolated from ostriches with diarrhea. *Vet Microbiol.* 2005; 105: 245–249.
- Neto OCF, Lages SLS, Carrasco AOT, Junior AB.** Search for *Salmonella* spp. in ostrich productive chain of Brazilian southeast region. *Trop Anim Health Prod.* 2009; 41: 1607–1614.
- Nwankwo IO, Faleke OO, Salihu MD, Magaji AA, Musa U, Garba J, Ibitoye EB.** Detection and viability of *Campylobacter* species isolates from different species of poultry and humans in Sokoto State, Nigeria. *International Journal of One Health* Available at www.onehealthjournal.org/Vol.2/4.pdf, Erişim Tarihi:15.12.2016.
- Oswald E, Schmidt H, Morabito S, Karch H, Marchès O, Caprioli A (2000).** Typing of intimin genes in human and animal enterohemorrhagic and enteropathogenic *Escherichia coli*: Characterization of a new intimin variant. *Infect Immun.* 2000; 68: 64–71.
- Quinn PJ, Markey BK, Leonard F, Hartigan P, Fanning S, FitzPatrick E.** *Veterinary Microbiology and Microbial Disease.* 2nd ed. Wiley–Blackwell Publishing, New York, NY. 201.
- Raissy M, Khamesipour F, Rahimi E, Khodadoostan A.** Occurrence of *Vibrio* spp., *Aeromonas hydrophila*, *Escherichia coli* and *Campylobacter* spp. in crayfish (*Astacus leptodactylus*) from Iran. *Iran J Fish Sci.* 2014; 13: 944-954.
- Rahimi E, Tajbakhsh E (2008).** Prevalence of *campylobacter* species in poultry meat in the Esfahan city, Iran. *BJVM.* 2008; 11(4): 257–262.
- Rahimi E, Ameri M, Kazemeini HR, Elbagi M .** Prevalence and antimicrobial resistance of *salmonella* isolated from retail raw turkey, ostrich, and partridge meat in Iran. *BJVM.* 2010; 13 (1): 23–30.
- Rahimi E, Ameri M.** Antimicrobial resistance patterns of *Campylobacter* spp. isolated from raw chicken, turkey, quail, partridge, and ostrich meat in Iran. *Food Control.* 2011; 22: 1165-1170.
- Siemer BL, Nielsen EM, On SLW.** Identification and molecular epidemiology of *Campylobacter coli* isolates from human gastroenteritis, food, and animal sources by amplified fragment length polymorphism analysis and penner serotyping. *Appl Environ Microbiol.* 2005; 71(4):1953–1958.
- Suzuki H, Yamamoto S.** *Campylobacter* contamination in retail poultry meats and by-products in Japan: a literature survey. *Food Control.* 2009; 20: 531-537.
- Verwoerd D, Olivier A, Henton M, and Van Der Walt M.** Maintaining health and performance in the young ostrich: Applications for a mannanoligosaccharide. *Biotechnology in the feed industry.* Proc. 14th Alltech Ann. Symp., Nottingham Univ. Press, Nottingham, UK.. 1998.
- Welsh RD, Vanhooser SL, Dye LB, Nieman RW (1997a).** *Salmonella* infection in ratites: Diagnosis, epidemiology, and clinical significance. *Vet Clin N Am Food A.* 1997a; 92: 193–198.
- Welsh RD, Nieman RW, Vanhooser SL, Dye LB (1997b).** Bacterial infections in ratites. *Vet Clin N Am Food A.* 1997b; 92: 992–998.

Oğlaklarda Giardiazis Kontrolüne Yönelik Oral Klinoptilolit Uygulaması

Deniz Alıç URAL¹, Hasan ERDOĞAN², Songül TOPLU^{2*}, Adnan AYAN³

¹Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Çiftliği, AYDIN.

²Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, AYDIN.

³Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, AYDIN.

*Corresponding author e-mail: songultp.09@hotmail.com

ÖZ

Bu çalışma doğal zeolit olan klinoptilolit oğlaklarda doğal yolla oluşan giardiazise karşı terapötik etkinliğinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirildi. Aydın ilinde yer alan bir keçi işletmesinde ishal anamnezi bulunan *G. duodenalis* ile doğal enfekte her iki cinsiyetten ve 19-41 günlük yaştaki 16 oğlak çalışma kapsamına alındı. Oğlaklar her grupta n=8 olacak şekilde randomize olarak 2 ayrı gruba ayrılarak I. gruba 1 g/kg dozda 10 gün oral yolla klinoptilolit uygulanırken, II. gruptaki oğlaklara hiçbir ilaç uygulaması yapılmayarak kontrol grubu olarak bırakıldı. Oğlaklarda klinoptilolit terapötik etkinliği 0. ve 10. günlerde rektumdan direkt olarak toplanan dışkı numunelerinin mikroskopik muayenesiyle değerlendirildi. Gram dışkıda kist atılımındaki azalma değerlendirildiğinde klinoptilolit giardiazise karşı 10. günde kist atılımında %95 etkinlik sağladı. Buna karşın kontrol grubunda 0. gün ile (165832) 10. günlerde (162096) kist atılımının geometrik ortalamalarındaki azalmanın yeterli olmadığı görüldü. Sonuç olarak giardiazisli oğlaklarda oral yolla 10 gün uygulanan klinoptilolit kist atılımını etkin şekilde azaltılmasına yardımcı olduğu söylenebilir.

Anahtar Kelime: Giardiazis, Klinoptilolit , Oğlak.

Application of Oral Clinoptilolite Intended For Prevention of Giardiasis in Goat Kids

ABSTRACT

The present study was established in an attempt to interpret treapeutic efficacy of clinoptilolite against naturally occurring giardiasis in goat kids. A total of sixteen goat kids naturally infected with *G. duodenalis* at the age of 19 to 41 days, of both sexes were enrolled into the study from a goat farm located in Aydın province. Goat kids were randomly assigned into two groups (n=8), whereas group I received oral clinoptilolite at a dosage of 1 g/kg for 10 days, goat kids in group II were left as control without receiving any drug. Therapeutic efficacy of clinoptilolite was determined by microscopical interpretation of faecal samples collected from the rectum directly on days 0 and 10. Interpretation of the percentage reduction in cyst excretion revealed clinoptilolite efficacy as 95% on day 10. Indeed geometric means of the number of excreted cysts were not reduced sufficiently in control group between day 0 (165832) and 10 (162096). In conclusion, it might be suggested that oral administration of clinoptilolite for 10 days may have helped significant reduction the excretion of cysts in goat kids with giardiasis.

Key Words: Giardiasis, Clinoptilolite, Goat kid.

GİRİŞ

Tek hücreli bir protozoan olan *Giardia*, geviş getiren hayvanlarında arasında bulunduğu pek çok hayvan türünde ishale neden ve giardiazis olarak adlandırılan hastalıktır (Adam 2000). İlk olarak 17. yüzyılın sonlarında Flemenk bilim adamı Antonie van Leeuwenhoek (Dobell 1920) tarafından tanımlanan etken, 1960' larda epidemiyoloji, patogenezis ve sağaltımına yönelik olarak *G. duodenalis* şeklinde yeniden tanımlandıktan sonra üzerinde yoğun çalışılmış ve önemli bir zoonoz nedeni olduğu anlaşılmıştır (Craun 1979, Farthing 1992, Jephcott ve ark. 1986). Günümüze geldiğimizde giardiazisin zaman zaman subklinik seyri ve duyarlı moleküler tespiti giderek önem kazanmaktadır (Gultekin ve ark. 2017). Oluşagelen birçok kliniko-patolojik bulgu; ishal, progresif kilo kaybı, gelişme geriliği ve bazen görülen ölüm tablosu etkenin çoğalmasıyla ilişkilidir (Aloisio ve ark. 2006). *Giardia*'sizli geviş getiren hayvanların en az 1/3' ünün hem ulus hem de toplum sağlığı açısından ana konu olabileceği belirtilmektedir. Bu kaniya varılma sebebi olarak da etkenin gerek çevresel bulaşma, su flora ve faunası ile kontaminasyonu gerekse de insanlar için besin zincirinde yer almasıyla enfekte hayvanlardan insanlara geçen zoonotik yapıda olması gösterilmektedir (Farizawati ve ark. 2005). Bu sebeple *G. intestinalis* tarafından oluşturulan giardiazis, insan ve hayvan yaşam sisteminde kontaminasyona neden olduğundan zoonotik bir hastalık olarak düşünülmelidir. Günümüzde *G. intestinalis*' in moleküler karakterine göre 8 farklı asemblajı (A-H) bulunmaktadır (Feng ve Xiao, 2011). Genellikle 'toynaklı asemblaj' olarak da bilinen E asemblajı buzağılarda (O'Handley ve ark. 2000, Trout ve ark. 2005, Trout ve ark. 2007), koyun ve keçilerde (Santín ve ark. 2007, Ruiz ve ark. 2008, Lim ve ark. 2013) *G. intestinalis*' in en yaygın asemblajı olmasına rağmen her iki geviş getiren türünde asemblaj A ve B ile ilişkili çalışmalar bildirilmiştir (Trout ve ark. 2005, Castro-Hermida 2007, Trout ve ark. 2007, Lim ve ark. 2013). Günümüzde giardiazisin geviş getirenlerde ki epidemiyolojine yönelik fazlaca çalışma mevcuttur (Trout ve ark. 2006, Santín ve ark. 2007). İshalle birlikte ekonomik kayıplara neden olmasının yanı sıra zoonotik karakterinden dolayı etkenin bölgesel dağılımının belirlenmesinin, ilerleyen çalışmalara öncü olabileceği düşünülmektedir (Ayan ve ark. 2016). Bununla birlikte özellikle bazı ülkelerde keçilerdeki (Castro-Hermida 2007, Ruiz ve ark. 2008, Lim ve ark. 2013) zoonotik prevalansını ortaya koyan çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu bağlamda ülkemizde de keçilerdeki enfeksiyonun durumu ve sağaltımına yönelik çalışmaların yapılmasının faydalı olacağı (Toplu ve ark., 2016) söylenebilir. Doğal bir zeolit olan klinoptilolit, çiftlik hayvanlarında kullanılabilen Avrupa Birliği

lisanslı bir yem katkı maddesidir (Anonim 2013). Bu maddenin aflotoksinler gibi mikotoksinleri polar haznelere hapseden yüksek emme kapasiteleri bulunmaktadır (Dacovic ve ark. 2000, Tomacevic-Canovic ve ark. 2001, Spotti ve ark. 2005). Bu çalışmada doğal zeolit bileşeni klinoptilolit'in oğlaklarda doğal yolla oluşan giardiazise karşı terapötik etkinliğinin belirlenmesi amaçlandı.

MATERYAL VE METOT

Çalışma grupları ve kompozisyonu

Aydın ilinde vatandaş elinde mevcut özel bir keçi işletmesinde ishal bulunan, her iki cinsiyetten 19-41 günlük yaştaki 16 oğlak çalışma kapsamına alındı. İshale neden olan enfeksiyöz ajanlardan bazılarının ayırıcı tanısına yönelik hızlı test kitleri (Anigen Rapid Bovid-5 Ag Test Kit, Bionote Lab.) ile *G. duodenalis*, Coronavirus, Rotavirus, Cryptosporidium ve *E. coli* K99 *sp.* antijenleri tarandı. Böylelikle 48 neonatal ishali oğlak içerisinde sadece giardiazis ile mono-enfekte 16 hasta hayvan çalışmaya dahil edildi. Bu çalışma, Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'nun 19.09.2013 tarih ve 2013/076 sayılı iznine dayanarak gerçekleştirildi. Oğlaklar bilgi onam formu ile işletme sahibinin bilgilendirilmesi sonucu gönüllük esasıyla çalışma kapsamına alındı.

Gruplandırma

Giardiazisli oğlaklar her grupta n=8 olacak şekilde rastgele iki ayrı gruba ayrıldı. I. gruba 1 g/kg dozda 10 gün oral yolla klinoptilolit (Natmin-9000) uygulanırken, II. gruptaki hayvanlara ilaç uygulaması yapılmaksızın kontrol grubu olarak bırakıldı. Klinoptilolit etken maddesini içeren toz halindeki preparatı 1/10 oranında sulandırılarak orogastrik sonda aracılığıyla uygulandı. İlaç uygulamaları esnasında çalışmada yer alan akademisyenlerin tamamı günlük periyotlarla işletmeye ziyarette bulunarak, uygulamalarda bizzat rol teşkil etmişlerdir. Çalışma tamamlandıktan sonra (10. gün) kontrol grubundaki oğlaklar hayvan refahı ve etik kurallar dahilinde standart ant-giardial (30 mg/kg/gün seknidazol) sağaltım protokolüne tabi tutuldu.

Dışkı Analizleri

Çalışma başlangıcında ve gruplara rastgele dağılım öncesi dışkıda *Giardia sp.* (ve diğer olası ya da neonatal ishale nedeni barsak patojenlerine yönelik) ait kist ve trofozoitlerinin saptanması için dışkı numuneleri 2 ince yayma froti hazırlanarak Giemsa boyama ile incelendi. Oğlaklarda klinoptilolit sağaltımının etkinliği 0. ve 10. günlerde toplanan dışkı örneklerinin mikroskopik muayenesiyle

belirlendi. Oğlaklardan toplanan dışkı örnekleri potasyum dikromat çözeltisi içerisinde mikrosokopik muayene yapılarına değin uygun ısıda (+4°C' de) saklandı. Akabinde çinko sülfat flotasyon (1.18 dansite) ile zenginleştirilerek ×40 veya ×100 büyütmede gram dışkı kist sayısına yönelik değerlendirildi. Kist atılımındaki azalmanın yüzdesi ilgili ve daha önceden gerçekleştirilmiş araştırmalar eşliğinde (Geurden ve ark. 2010, Ural ve ark. 2014) geometrik ortalamasının Henderson-Tilton formülüne (Henderson ve Tilton 1955) işlenmesiyle hesaplandı.

İstatistiksel analizler

Gram dışkıdaki kist sayıları baz alınarak elde edilen değerlerin geometrik ortalaması tanımlayıcı istatistiksel analizler ile gerçekleştirildi. Klinoptilolit sağaltım ve kontrol gruplarının 0. ve 10. günlerdeki kist sayıları arası farklılıkların belirlenmesinde Friedman testi, her bir gün için gruplar arası farklılıkların değerlendirilmesinde ise Mann Whitney U testi kullanıldı. İstatistiksel analizlerin gerçekleştirilmesinde SPSS 15.0 paket programından yararlanıldı. $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Gruplara dağılım gerçekleştirilmeden araştırmacı grup eşliğinde [multidisipliner olarak Ziraat Mühendisliği, Hayvan Yetiştirme ve Veteriner Hekimliği İç Hastalıkları alanlarında uzman ekip tarafından] gerçekleştirilen saha taramasında ilgili çiftlikte tüm olgularda sulu kıvamda, sarı renkte dışkılama ve ishal belirlendi. Çalışmamızın multidisipliner alanda olmasıyla klinoptilolit hayvan yetiştirme açısından kullanımına yönelik Uzman Dr. Ziraat Mühendisi ile yine alanında ve geniş getiren hayvanlarda çalışmaları mevcut Veteriner Hekimler (Dahiliye ve Parazitoloji Ana Bilim Dalları) görev almışlardır. On günlük süre zarfında dışkı analizlerinde farklı bir patojene rastlanmadı. Sağaltım grubundaki oğlakların tamamında 10. günde dışkı kıvamlarının normal olduğu, buna karşın kontrol grubu oğlakların dışkı karakterinde yumuşamanın devam ettiği tespit edildi. Sağaltım grubundaki oğlaklarda klinoptilolit uygulamasına ilişkin herhangi bir yan etki gözlemlenmedi. Kontrol grubundaki oğlaklarda mortalite şekillenmedi.

Kontrol ve sağaltım gruplarındaki oğlaklarda 2 farklı zaman diliminde belirlenen kist atımlarının geometrik ortalaması ve klinoptilolit uygulaması sonrasında tespit edilen kist atılımındaki azalma yüzdesi Tablo 1' de sunuldu. Kontrol ve sağaltım gruplarında 10. günde gruplar arası karşılaştırmalarda istatistiksel olarak belirgin ve anlamlı farklılık ($p=0,0001$) belirlendi.

Tablo 1: Giardiasisli oğlaklarda kontrol ve sağaltım gruplarına ait ortalama kist sayıları ve istatistiksel değerlendirmesi.

TABLE 1: Mean cyst counts and statistical evaluation of control and treatment groups in goat kids with giardiasis.

	0. gün	10. gün
Kontrol	165832	162096
Tedavi	146835	8,30
P değeri	0,091	0,0001
Kist atılımındaki azalma (%)		%95

TARTIŞMA ve SONUÇ

Zeolitler içerisinde doğal formasyonda ve grup içerisinde yer alan klinoptilolit, kimyasal bileşenleriyle fazlaca elementi içeren (Ba, Ca, Mg, Sr vb. toprak alkali, ilaveten Cs, K, Na, Rb vb. alkali karakterde) kristalize alüminosilikatlardır (Bosi ve

ark. 2002, Karadeniz 2003, Omid ve ark. 2008). Bilinen kimyasal yapısıyla M harfi Na, Ca, K veya diğer monovalent katyonları, D harfi Sr, Ba, Ca, ve diğer divalent katyonları göstermektedir (Anonim 1997, Scott ve ark. 2003, Elliot ve Dong-ke 2005, Jha ve Singh 2011, Jha ve Singh 2012, Anonim 2015). Zeolit silisyum/alüminyum oranı ve katyon

içeriği nedeniyle öne çıkmaktadır (Tsitsishvili ve ark. 1992, Morali 2006). İyon değiştirici ve toksin bağlayıcı yapılarının yanı sıra farklı meziyetleriyle doğal bir etken madde olması değişik amaçlarla hayvan yetiştiriciliğinde kullanımına yol açmaktadır (Mumpton ve Fishman 1977, Filippidis ve ark. 1996, Mumpton 1999, Sadeghi ve Shawrang 2006, Dschaak ve ark. 2010, Ilic ve ark. 2011). Klinoptilolitin anti-diyaretik (Rodríguez-Fuentes ve ark. 1997), antiviral (Grce ve Pavelić 2005), antikarsinojen (Pavelić ve ark. 2001, Mück-Şeler ve Pivac 2003, Zarcovic ve ark. 2003, Katic ve ark. 2006), antioksidan (Zarcovic ve ark. 2003), immunmodülatör (Ivkovic ve ark. 2004) etkilerinin yanı sıra diklorvos, kadmiyum ve VX gazı toksikasyonlarının önlenmesinde etkili olduğu (Pond ve Yen 1983, Nistiar ve ark. 1984, Mojzis ve ark. 1993) bildirilmektedir. Ayrıca kısa süreli kolostrum ve süte katılarak serum mineral seviyesini arttırdığı (Mohri ve ark. 2008) ve uzun süreli yem katkı maddesi olarak kullanımında yan etkisi bulunmadığı belirtilmektedir (Katsoulos ve ark. 2005, Katsoulos ve ark. 2006). Bu çalışmada klinoptilolitin oğlaklarda doğal yolla oluşan giardiazise karşı terapötik etkinliği, bilinenin farklı alan uygulanması manasında önemliydi. Şöyle ki aynı araştırmacı grubunun bir kısmının daha önceden buzağlarda yine giardiazise yönelik olarak klinoptilolit ile 7. günde %74, 14. günde %84 etkinlik sağladığı bildirimi (Alıç Ural ve ark. 2016), göz önünde bulundurulduğunda bu çalışmada 10. günde saptanan %95 etkinlik önceki çalışmaya kıyasla daha yüksektir. Mevcut iyileşme oranının daha yüksek olması, giardiaziste aralıklı kist saçılımı ile açıklanabilir.

Saanen melezi 72 keçide yem katkı maddesi olarak kullanılan klinoptilolitin verim, üretim ile serum yağda çözünen vitamin, makro ve iz element ve karaciğer enzimlerine olan etkisinin araştırıldığı çalışmada, %2.5' luk klinoptilolit katılan yemle beslenen keçilerde kontrol grubuna göre serum biyokimyasal parametrelerde olumsuz değişimlere neden olmaksızın canlı ağırlığı ve süt yağında artış ile sütte somatik hücre sayısında belirgin azalma sağladığı tespit edilmiştir (Katsoulos ve ark. 2009). Bizim çalışmamızda 1 gr/kg dozunda oral yolla verilen klinoptilolitin dozu önceki literatür eşliğinde (Alıç Ural ve ark. 2016) belirlenmiştir.

Giardiazisin geviş getiren hayvanlarda yüksek prevalansta seyretmesinin yanı sıra muhtemel verim kayıpları, ilave zoonotik risk sebepleriyle ivedilikle sağaltılmasının uygun olacağı bildirilmiştir (Geurden ve ark. 2010, Gultekin ve ark. 2016, Karademir ve ark. 2016). Geviş getiren hayvanlarda giardiazis sağaltımında albendazol (Xiao ve ark. 1996, Ragbetli ve ark. 2014), fenbendazol (Xiao ve ark. 1996, O'Handley ve ark. 2000, Geurden ve ark. 2010) ya da paramomisin (Geurden ve ark. 2006) öne çıkmaktadır. Bunun yanı sıra antimalarial bir

ilaç olan klorokinin son dönemlerdeki alternatif tedavi seçenekleri arasında yer alabileceği belirtilmektedir (Gultekin ve ark. 2016, Karademir ve ark. 2016). Gerek sağaltımda yetersiz sayıda seçeneğin bulunması, gerekse mevcut ilaçların giardiazis sağaltımına yönelik FDA onayı bulunmaması gibi tüm nedenlerden ötürü yeni sağaltım seçenekleri umut vaat edebilir.

Zeolitler, yukarıda da sözü edildiği üzere farklı çıkış noktalarında hayvan yetiştiriciliğinde kullanılmaktadır. Zeolitlerin önemli yeni kuşak bileşenlerinden klinoptilolit hayvan beslemede performansı ve genel durumu düzeltmeye yönelik kullanım sahası bulmaktadır (Mumpton 1999, Papaioannou ve ark. 2005). Avrupa Komisyonu 2000' lerin başında alınan etken maddenin çiftlik hayvanlarında rasyona ilavesini onaylamıştır (Sadeghi ve Shawrag 2008). Bunların dışında, ishal önleyici ve antimikrobiyel özelliklerinin bulunması avantajdır (Sadeghi ve Shawrag 2008). Kuzularda paraziter enfeksiyonlara (Deligiannis ve ark. 2005), ratlarda *Nippostrongylus brasiliensis* adlı paraziter etkene (Wells ve McHugh, 1983), ve güncel olarak buzağlarda giardiazise karşı etkin şekilde kullanımı (Alıç Ural ve ark. 2016), çalışmamızın sonuçlarını da destekler mahiyettedir. Her ne kadar klinoptilolitin antiparaziter özelliği ile sağaltımda kullanılabilirliği net olarak aydınlatılamasa da, antimikrobiyel etkinliği (Saengmee-anupharb ve ark. 2013, Demirci ve ark. 2014, Top ve Ülkü 2004, Milenković ve ark. 2015) göz önünde bulundurulabilir. Bu çalışmada gram dışıdaki kist atılımı yönünden yapılan analizde klinoptilolitin giardiazise karşı 10. günde %95 etkinlik sağlayışı, buna karşın kontrol gurubunda dışkı kist sayısında olumlu yönde azalma olmayışı, klinoptilolitin bir alternatif olabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Adam RD.** The Giardia lamblia genome. Int J Parasitol. 2000; 30(4): 475-484.
- Alıç Ural D, Aysul N, Gültekin M.** Buzağlarda Oral Yolla Klinoptilolit Uygulamasının Doğal Yolla Oluşan Giardiazis'e Karşı Etkinliği. Kocatepe Vet J. 2016; 9(4): 288-293.
- Aloisio F, Filippini G, Antenucci P, Lepri E, Pezzotti G.** Severe weight loss in lambs infected with Giardia duodenalis assemblage. Vet Parasitol. 2006; 142(1): 154-158.
- Anonim** **1997.**
<http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol68/mono68-11.pdf> (1997);
Erişim tarihi: 04.09.2015.

- Anonim** 2013. <http://zeolife.eu/wp-content/uploads/2016/12/EU-No-651-2013.pdf>; Erişim tarihi: 10.07.2013.
- Anonim** 2015. <http://www.webmineral.com>; Erişim tarihi: 04.09.2015.
- Ayan A, Ural K, Aysul N, Gültekin M, Erdoğan H, Balıkcı C, Toplu S, Toros G.** Natural Cyst Shedding in Calves Infected with *Giardia Duodenalis*. JAVST. 2016; 1(1): 14-19.
- Castro-Hermida JA, Almeida A, González-Warleta M, Correia da Costa JM, Rumbo-Lorenzo C.** Occurrence of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia duodenalis* in healthy adult domestic ruminants. Parasitol Res. 2007; 101(5): 1443-1448.
- Craun GF.** Waterborne giardiasis in the United States: a review. Am J Public Health. 1979; 817-819.
- Dacovic A, Tomacevic-Canovic M, Dondur V, Vujakovic A, Radosevic P.** Kinetics of aflatoxin B1 and G2 adsorption on Ca-clinoptilolite. J Serb Chem Soc. 2000; 65(10):715-723.
- Dobell C.** The discovery of the intestinal protozoa of man. Proc R Soc Med. 1920; 13: 1-15.
- Elliot AD, Dong-ke Z.** Controlled release zeolite fertilizers: a value added product produced from fly ash. In: World of Coal Ash Conference (WOCA), April 11-15, Kentucky, USA. 2005.
- Farizawati S, Lim YA, Ahmad RA, Fatimah CT, Siti-Nor Y.** Contribution of cattle farms towards river contamination with *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in Sungai Langat Basin. Trop Biomed. 2005; 22(2): 89-98.
- Farthing M.** *Giardia* comes of age: progress in epidemiology, immunology and chemotherapy. J Antimicrob Chemother. 1992; 30(5): 563-566.
- Feng Y, Xiao L.** Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. Clin Microbiol Rev. 2011; 24(1): 110-140.
- Grce M, Pavelić K.** Antiviral properties of clinoptilolite. Micropor Mesopor Mat. 2005; 79(1): 165-169.
- Gultekin M, Ural K, Aysul N, Ayan A, Balıkcı C, Akyıldız G.** The efficacy of chloroquine treatment of *Giardia duodenalis* infection in calves. Vlaams Diergeneeskd Tijdschr. 2016; 85(6): 335-341.
- Gultekin M, Ural K, Aysul N, Ayan A, Balıkcı C, Akyıldız G.** Prevalence and molecular characterization of *Giardia duodenalis* in dogs in Aydın, Turkey. Int J Environ Health Res. 2017; 1-8.
- Ivkovic S, Deutsch U, Silberbach A, Walrath E, Mannel M.** Dietary supplementation with the tribomechanically activated zeolite clinoptilolite in immunodeficiency: effects on the immune system. Adv Ther. 2004; 21(2): 135-147.
- Jephcott AE, Begg NT, Baker IA.** Outbreak of giardiasis associated with mains water in the United Kingdom. Lancet. 1986; 327(8483): 730-732.
- Jha B, Singh DN.** A review on synthesis, characterization and industrial application of fly ash zeolites. J Mater Edu. 2011; 33(1-2): 65-132.
- Jha B, Singh DN.** Zeolitization characteristics of a fly ash from wet- and dry- disposal systems. Acta Geotech Slov. 2012; 9(2): 63-71.
- Karademir U, Ural K, Aysul N, Ayan A, Toplu S, Ortlek O, Balıkcı C, Kunyeli A, Erdogan H.** The efficacy of chloroquine treatment against naturally occurring *Giardia duodenalis* infection in lambs. Rev MVZ Córdoba. 2016; 21(2): 5328-5335.
- Katic M, Bosnjak B, Gall-Troselj K, Dikic I, Pavelic K.** A clinoptilolite effect on cell media and the consequent effects on tumor cells in vitro. Front Biosci. 2006; 11(2): 1722-1732.
- Katsoulos PD, Roubies N, Panousis N, Karatzias H.** Effects of long-term feeding dairy cows on a diet supplemented with clinoptilolite on certain serum trace elements. Biol Trace Elem Res. 2005; 108(1): 137-145.
- Katsoulos P, Panousis N, Roubies N, Christaki E, Arsenos G, Karatzias H.** Effects of long-term feeding of a diet supplemented with clinoptilolite to dairy cows on the incidence of ketosis, milk yield and liver function. Vet Rec. 2006; 159: 415-418.
- Katsoulos PD, Zarogiannis S, Roubies N, Christodouloupoulos G.** Effect of long-term dietary supplementation with clinoptilolite on performance and selected serum biochemical values in dairy goats. Am J Vet Res. 2009; 70(3): 346-352.

- Lim YA, Mahdy MA, Tan TK, Goh XT, Jex AR.** First molecular characterization of *Giardia duodenalis* from goats in Malaysia. *Mol Cell Probes.* 2013; 27(1): 28-31.
- Milenković JK, Hrenović JJ, Goić-Barišić IS, Tomić MD, Rajić NZ.** Antibacterial activity of copper-containing clinoptilolite/PVC composites toward clinical isolate of *Acinetobacter baumannii*. *J Serb Chem Soc.* 2015; 80(6): 819-826.
- Mohri M, Seifi HA, Maleki M.** Effects of short-term supplementation of clinoptilolite in colostrum and milk on the concentration of some serum minerals in neonatal dairy calves. *Biol Trace Elem Res.* 2008; 123(1-3): 116-123.
- Mojzis J, Nistiar F, Kovac G, Mojzisova G.** Preventive effect of zeolite in VX poisoning in rats. *Vet Med.* 1993; 39(8): 443-449.
- Mück-Šeler D, Pivac N.** The effect of natural clinoptilolite on the serotonergic receptors in the brain of mice with mammary carcinoma. *Life Sci.* 2003; 73(16): 2059-2069.
- Nistiar F, Hrusovský J, Mojzis J, Mizik P.** Distribution of dichlorvos in the rat and the effect of clinoptilolite on poisoning. *Vet Med.* 1984; 29(11): 689-698.
- O'Handley RM, Olson ME, Fraser D, Adams P, Thompson RC.** Prevalence and genotypic characterisation of *Giardia* in dairy calves from Western Australia and Western Canada. *Vet Parasitol.* 2000; 90(3): 193-200.
- Pavelić K, Hadžija M, Bedrica L, Pavelić J, Đikić I, Katić M, Križanac Š.** Natural zeolite clinoptilolite: new adjuvant in anticancer therapy. *J Mol Med.* 2001; 78(12): 708-720.
- Pond WG, Yen JT.** Protection by clinoptilolite or zeolite NaA against cadmium-induced anemia in growing swine. *Ex Biol Med.* 1983; 173(3): 332-337.
- Rodriguez-Fuentes G, Barrios MA, Iraizoz A, Perdomo I, Cedre B.** Enterex: Anti-diarrheic drug based on purified natural clinoptilolite. *Zeo.* 1997; 19(5-6): 441-448.
- Ruiz A, Foronda P, González JF, Guedes A, Abreu-Acosta N.** Occurrence and genotype characterization of *Giardia duodenalis* in goat kids from the Canary Islands, Spain. *Vet Parasitol.* 2008; 154(1): 137-141.
- Santín M, Trout JM, Fayer R.** Prevalence and molecular characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* species and genotypes in sheep in Maryland. *Vet Parasitol.* 2007; 146(1): 17-24.
- Scott MA, Kathleen AC, Dutta PK.** Handbook of zeolite science and technology. CRC Press, New York. 2003; pp. 1204.
- Spotti M, Fracchiolla ML, Arioli F, Caloni F, Pompa G.** Aflatoxin B1 binding to sorbents in bovine ruminal fluid. *Vet Res Commun.* 2005; 29(6): 507-515.
- Tomacevic-Canovic M, Dacovic A, Markovic V, Stojcic D.** The effect of exchangeable cations in clinoptilolite and montmorillonite on the adsorption of aflatoxin B1. *J Serb Chem Soc.* 2001; 66(8): 555-561.
- Top A, Ülkü S.** Silver, zinc, and copper exchange in a Na-clinoptilolite and resulting effect on antibacterial activity. *Appl Clay Sci.* 2004; 27(1-2): 13-19.
- Toplu S, Ural K, Aysul N, Ayan A, Gültekin M, Balıkcı C.** *Giardia* Sp. İle Doğal İnfekte Buzağlarda Hipomagnezemi. *Kocatepe Vet J.* 2016; 9(4): 386-390.
- Trout JM, Santín M, Greiner E, Fayer R.** Prevalence and genotypes of *Giardia duodenalis* in post-weaned dairy calves. *Vet Parasitol.* 2005; 130(3): 177-183.
- Trout JM, Santín M, Greiner EC, Fayer R.** Prevalence and genotypes of *Giardia duodenalis* in 1-2 year old dairy cattle. *Vet Parasitol.* 2006; 140(3): 217-222.
- Trout JM, Santín M, Fayer R.** Prevalence of *Giardia duodenalis* genotypes in adult dairy cows. *Vet Parasitol.* 2007; 147(3): 205-209.
- Ural K, Aysul N, Voyvoda H, Ulutas B, Aldemir OS, Eren H.** Single dose of secnidazole treatment against naturally occurring *Giardia duodenalis* infection in Sakiz lambs. *Rev MVZ Córdoba.* 2014; 19(1): 4023-4032.
- Zarcovic N, Zarcovic K, Kralj M, Borovic S, Sabolovic S, Blazi MP, Pavelic K.** Anticancer and antioxidative effects of micronized zeolite clinoptilolite. *Anticancer Res.* 2003; 23(2): 1589-1596.

Abaza Keçilerinde Progesteron Destekli Östrus Senkronizasyonunun Bazı Reprodüktif Parametrelere Etkileri

Mushap KURU^{1*}, Buket BOĞA KURU², Recai KULAKSIZ³, Umut Çağın ARI⁴, Hasan ORAL¹

¹Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, KARS.

²Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootehni Anabilim Dalı, KARS.

³Balıkesir Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tobumlama Anabilim Dalı, BALIKESİR.

⁴Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tobumlama Anabilim Dalı, KARS.

*Corresponding author e-mail: mushapkuru@hotmail.com

ÖZ

Bu çalışmada, yerli keçi ırklarımızdan birisi olan Abaza keçilerinin ilk kez olarak progesteron kaynaklı senkronizasyon uygulamasının bazı reprodüktif özellikler ve döl verimi sonuçlarına etkilerinin araştırılması amaçlandı. Çalışmada 2-5 yaşlı, 40-50 kg ağırlığında 40 adet Abaza keçisi kullanıldı. Araştırma üreme mevsiminde gerçekleştirildi. Grup 1'e (n=15) kontrollü progesteron salan aparat (CIDR) ile hormon uygulaması yapılarak östrus senkronizasyonu sağlanırken, Grup 2'ye ise (n=25) herhangi bir hormon uygulanmadı ve kontrol gurubu olarak değerlendirildi. Östrus süresi Grup 1 ve 2'de sırasıyla 25,1±2,11, 25,4±3,69 saat olarak belirlendi. İlk östrusta gebe kalma oranı Grup 1 ve 2 sırasıyla %73,33, %88 olarak saptandı. Gebelik süresi Grup 1 ve 2'de sırasıyla 153,50±3,21, 151,26±3,89 olarak belirlendi. Östrus süresi, ilk östrusta gebe kalma oranı, gebelik süresi, doğum saatleri arasında gruplar arasında istatistiksel bir fark gözlenmedi. Özellikle doğumların gündüz olduğu ve %72,98 oranında saat 06.00 ile 12.00 arasında görüldüğü saptandı (P<0,001). Çalışma süresince sadece 1 foliküler kist, 1 prematüre doğum ve 1 güç doğum olgusuyla karşılaşıldı. Grup 1'deki ikizlik oranının (%53,34) Grup 2'ye göre (%12) istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek olduğu belirlendi (P=0,005). Yirmi yedi keçide tek yavru (14 erkek - 13 dişi) doğumu izlenirken 10 keçide ikiz yavru (10 erkek - 10 dişi) gözlemlendi. Sonuç olarak, Abaza keçilerinin pek fazla reprodüktif sorun yaşamadığı, doğumlarının gündüz, ikiz doğumların az ve senkronizasyon uygulamalarının üretime herhangi bir olumsuz etkisinin olmadığı belirlendi.

Anahtar Kelime: Abaza keçisi, Doğum, İkiz, Progesteron, Senkronizasyon

Effects of the Progesterone-Based Estrus Synchronization on Some Reproductive Parameters in Abaza Goats

ABSTRACT

This study was undertaken to investigate the effects of progesterone-based synchronization on reproductive characteristics and fertility outcomes for the first time in native Abaza goat breed. A total of 40 Abaza goats, weighing 40-50 kg, aged 2-5 years, were used in the trial. The study was conducted during the mating season. Group 1 (n=15) received hormone administration with progesterone and estrus synchronization. Group 2 (n=25) did not receive hormone administration (control group). The length of estrus was 25.1±2.11 and 25.4±3.69 hours in Groups 1 and 2, respectively. The rate of pregnancy in the first estrus was 73.33% and 88% respectively in Group 1 and 2, respectively. Moreover, the duration of pregnancy was 153.50±3.21 and 151.26±3.89 Group 1 and 2 respectively. There was no statistically significant difference between the groups in terms of estrus duration, first estrous pregnancy rate, duration of pregnancy, and time of birth. It was especially found that the births were daytime and 72.98% between 06.00 and 12.00 hours (P<0.001). During the study, only 1 follicular cyst, 1 premature birth and 1 dystocia were encountered. Group 1 twin ratio (53.34%) was statistically significantly higher than Group 2 (12%) (P=0.005). The goats had 27 single (14 male - 13 female) and 10 twin (10 male - 10 female) births. As a result, it was determined that the Abaza goats did not have many reproductive problems, their births were daytime, the twin births were low and synchronization application has no negative effect on the production.

Key Words: Abaza goat, Parturition, Progesterone, Synchronization, Twin

To cite this article: Kuru M. Kuru-Boğa B. Kulaksız R. Ari U.Ç. Oral H. Abaza Keçilerinde Progesteron Destekli Östrus Senkronizasyonunun Bazı Reprodüktif Parametrelere Etkileri Kocatepe Vet J. (2017) 10(3): 164-171.

Ülkemizde esas olarak Artvin ilinde yetiştiriciliği yapılan Abaza keçilerinin sayılarında hızlı bir azalma söz konusu olup bu keçiler yok olma tehlikesiyle karşı karşıyadır. Artvin ili Borçka ilçesi ve çevresinde çok az sayıda keçinin yetiştiriciliği yapıldığı bildirilmektedir (Batu 1951, Sezgin ve ark. 2010, Anonim 2016). Bu nedenle Abaza keçilerinin koruma altına alınması Türkiye yerli keçi gen kaynakları potansiyeline çok önemli katkı sağlayacaktır. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından geliştirilen ve 1995 yılında uygulamaya konulan “Evcil Hayvan Genetik Kaynaklarını Koruma Projesi” kapsamında bu keçinin genotipinin korunmasına devam edilmektedir (Sezgin ve ark. 2010). Ayrıca Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığının 17 Temmuz 2012 tarihli “Hayvan Genetik Kaynakları Yerinde Koruma ve Geliştirme Destekleri Hakkında Uygulama Esasları Tebliği (Tebliğ No: 2012/54)” ve 12 Mayıs 2015 tarihli “Hayvancılık Desteklemeleri Hakkında Uygulama Esasları Tebliğinde (Tebliğ No: 2015/17)” Abaza keçisi destekleme kapsamına alınmıştır. Bununla birlikte Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Eğitim Araştırma ve Uygulama Çiftliği’nde TÜBİTAK Destekli (1120193) Proje kapsamında Abaza keçi sürüsü oluşturulmuştur. Abaza keçileri genel olarak bronz, beyaz, siyah ve kahverengi renktedir. Ağız, gözlerin etrafı, boynuzlar ve bacaklar siyah renkte olabilir. Beden yapısı olarak ince formdadır ve bundan dolayı da ceylana benzetilmiştir. Tekelerin kılıç şeklinde, yassı ve geniş şekilli boynuzları varken, dişiler boynuzlu veya boynuzsuz olabilir. Kollar kısa, ince ve ipek gibi yumuşaktır. Özellikle bölgede yetiştiriciliği yapılan diğer yerli keçi ırklarına göre et ve süt verimlerinin daha üstün olduğu bildirilmiştir (Batu 1951). Laktasyon süresinin 175-180 gün olduğu ve laktasyon periyodu boyunca süt verimlerinin 200-500 litre arasında değiştiği bildirilmektedir (Sezgin ve ark. 2010). Türkiye’de Abaza keçilerinin reproduktif veya diğer verim özelliklerinin tanımlanmasına yönelik çalışma ve bilgiye ulaşamamıştır. Henüz reproduktif özellikleri tam olarak belirlenmemiş olan bu ırklar üzerindeki çalışmalar devam etmektedir (Arı ve ark. 2016, Kuru ve ark. 2016a, 2016c, 2016d, 2016e). Bu hedefe yönelik olarak yapılan araştırmamızın amacı, ilk kez olarak Abaza keçilerinin bazı reproduktif özelliklerinin ortaya konması ve literatürdeki eksikliğinin giderilmesidir. Bu bağlamda, kontrollü progesteron salan aparat (CIDR) kullanılarak östrus senkronizasyonu yapılan ve doğal östrustaki Abaza keçilerinde bazı fizyolojik özelliklerinin, gebelik süreci ve postpartum dönemde karşılaşılabilecek bazı patolojik olguların tespiti ile yavruların doğum tipi ve yaşam güçlerinin belirlenmesi de amaçlanmıştır.

Yapılan bu çalışma, Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı’ndan alınan onay (KAÜ-HADYEK 2012/05) sonrası yürütülmüştür. Çalışmada laktasyonda olmayan, en az bir doğum yapmış, 40-50 kg ağırlığında ve 2-5 yaş arası 40 Abaza keçisi kullanıldı. Hayvanlar kuru yonca otu, kuru ot ve konsantre yem (%12 ham protein, 2600 kcal/kg) ile günde iki kez beslendi. Keçilere su *ad libitum* olarak verildi. Aynı sürü içerisindeki keçiler rastgele 2 gruba ayrıldı. Grup 1’e (n=15) üreme sezonunda (Ekim-Kasım ayları arasında) östrus senkronizasyonu yapıldı. Senkronize edilen keçilere progesteron salan aparat (0,33 g Progesteron, CIDR, Eazi-Breed CIDR®, Zoetis, Türkiye) intravaginal olarak yerleştirildi ve 11 gün boyunca vaginada kaldı. Dokuzuncu gün tüm keçilere 400 IU gebe kısrak gonadotropini (i.m., PMSG, Chronogest®, MSD-İntervet, Türkiye) ve 5 mg dinoprost trometamin (i.m., Dinolytic®, Zoetis, Türkiye) enjekte edildi. Vagina içi yerleştirilen CIDR 11. gün çıkarıldı ve 12 saat sonra östrus takibine başlandı. Östrusların belirlenmesinde arama tekesi kullanıldı. Östruslar 6 saat arayla 3 gün boyunca izlendi. Tekenin atlamasına izin veren ve tekenin altında sabit duran keçilerin östrusta olduğu kabul edildi. Bu keçiler fertil tekelerle elde sıfat yöntemiyle çiftleştirildi. Özellikle senkronizasyon sonrasında östrus göstermeyenler Grup 2’deki gibi takip edildi. Bu takiplerde gebelik muayenesinden önce (çiftleşmeden 20-22 gün sonra) kızgınlık gösterenler de belirlenip yeniden çiftleştirildi. Grup 2’e (n=25) östrus senkronizasyonu amacıyla herhangi bir hormon uygulaması yapılmadı. Üreme sezonu olmasından dolayı arama tekesi sabah ve akşam olmak üzere keçilerin içine bırakıldı. Östrusta olduğu tespit edilenler sürüden ayrıldı ve farklı bir padokta elde sıfat fertil tekelerle çiftleştirildi. Bu uygulamaya tüm keçiler çiftleşene kadar devam edildi. Çiftleşmeler sonrasında alınan kayıtlara göre gebelik muayeneleri yapıldı. Gebelik muayenesi çiftleşmeden 30 gün sonra 5-7,5 MHz linear problu transrektal ultrasonografi (Sonosite Titan®, Sonosite, USA) ile yapıldı. Ultrasonografiden hemen önce kayganlaştırıcı kullanılarak rektumda bulunan dışkılar temizlendi. Transrektal ultrasonografi keçi ayaktayken yapıldı. Muayene sırasında embriyonun tespit edilmesiyle gebelik teşhisi konuldu (Kuru ve ark. 2016c). Çalışma süresince keçiler takip edilerek reproduksiyon ve doğum ile ilgili verileri toplandı. Doğum öncesinde; östrus süresi, gebelik süresi, gebe kalan keçi sayısı ve abort oranları belirlendi. Doğum sonrasında; doğum yapan keçi sayısı, prematüre doğum, güç doğum, ölü doğum, yavruyu sahiplenme, retentio sekundinarum, prolapsus vagina-uteri, metritis- klinik endometritis, klinik mastitis ve folliküler kist oranları kaydedildi. Bunun yanında doğum saatleri, doğum tipi ve yavruların

yaşam gücü tespit edildi. Doğum süresi, doğum zamanı ve doğum oranlarının belirlenmesinde prematüre doğumlar dikkate alınmadı. Doğum sonrası yavru zarlarının atılmaması durumu retentio secundinarum, doğum öncesi veya doğum sonrası vaginanın vulva dudakları arasından dışarı çıkması prolapsus vagina, doğum sonrası uterusun serviksten geçerek vulva dudakları arasından sarkması prolapsus uteri olarak kabul edildi. Postpartum süreçte klinik olarak purulent veya mukopurulent vaginal akıntı gözlemlendiğinde transrektal ultrasonografi ve vaginal spekulum uygulaması ile desteklenerek metritis-endometritis için muayeneler yapıldı. Yine keçiler çiftleştirildikten sonraki ilk hafta içerisinde yeniden kızgınlık göstermesi durumunda, ultrasonografi ile ovaryumda ovule olmamış, büyümüş graff follikülün tespiti ile anormal uzunlukta östrus gösteren olgular da foliküler kist olarak kaydedildi. Verilerin istatistiksel analizi SPSS® (SPSS 20, IL, USA) programı kullanılarak yapıldı. Gruplar arası östrus ve gebelik sürelerinin karşılaştırılması Student-*t* testi ile değerlendirildi. Diğer parametrelerin karşılaştırılmasında ise Ki-kare testi kullanıldı. Elde edilen sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak verildi. Sonuçların değerlendirilmesinde “ $P < 0,05$ ” ifadesi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Reprodüktif parametreler Erten ve Yılmaz (2013) tarafından bildirilen formüller kullanılarak hesaplanmıştır.

BULGULAR

Keçilerin doğal östrus veya senkronizasyon sonrasında takip edilen östrus süreleri arasında istatistiksel bir farkın olmadığı belirlendi ($P > 0,05$). Abaza keçilerinin tamamının östrus gösterdiği (%100) ve ortalama östrus süresinin $25,5 \pm 2,9$ saat olduğu belirlendi (Tablo 1). Gebelik süresinin her iki

grupta da benzer olduğu ($P > 0,05$) ve ortalama gebelik süresinin $152,56 \pm 3,55$ gün olduğu tespit edildi.

Gruplarda ilk östrustaki gebelik oranı sayısal olarak Grup 2’de daha yüksek tespit edildi fakat istatistiksel olarak diğer gruptan farklı değildi ($P > 0,05$). Östrus senkronizasyonu yapılan keçilerde östruslar dağılmadığından dolayı doğumlar daha toplu şekilde oldu. Grup 1 ve 2’de ilk östrusta sırasıyla %73,33 ve %88 oranında gebelik elde edildi. Keçilerin neredeyse tamamının üreme sezonu sonuna kadar gebe kaldığı (Grup 1 ve 2’de birer keçi hariç) ve doğum yaptığı (Grup 1’de prematüre doğum yapan 1 keçi hariç) belirlendi. Dolayısıyla infertilite problemi pek fazla yaşanmadı. Diğer parametrelerle ilgili veriler Tablo 2’de özetlenmiştir.

Abaza keçilerinin doğum saatleri incelendiğinde, her iki grupta da benzer olduğu görüldü ($P > 0,05$). Özellikle doğumların gündüz olduğu ve %72,98 oranında saat 06.00 ile 12.00 arasında gerçekleştiği saptandı (Tablo 3, $P < 0,001$).

Çalışmada Abaza keçilerinde ikizlik oranının düşük oranda olduğu belirlendi. Keçilerin genel olarak %67,5 oranında tekiz doğurduğu görüldü. Grup 1’deki ikizlik oranının (%53,34) Grup 2’ye göre (%12,00) istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek olduğu belirlendi ($P = 0,005$). Ayrıca dişi erkek oranlarının da benzer olduğu tespit edildi (Tablo 4).

Abaza keçilerinde tekiz doğan yavruarda yaşama gücünün daha yüksek olduğu ve erkeklerin dişilere göre yaşama gücünün düşük olduğu saptandı. Ayrıca neonatal dönemde özellikle ilk 7-30 günlük dönemde oğlaklarda mortalite oranının fazla olduğu belirlendi (Tablo 5).

Tablo 1. Abaza keçilerinde östrus ve gebelik süreleri
Table 1. The length of estrus and pregnancy in Abaza goats

Parametreler	Gruplar	N	Ort. \pm St. Sapma
Östrus süresi (Saat)	Grup 1	15	25.10 \pm 2.11
	Grup 2	25	25.40 \pm 3.69
	Total	40	25.50 \pm 2.90
Gebelik süresi (Gün)	Grup 1	13	153.50 \pm 3.21
	Grup 2	24	151.26 \pm 3.89
	Total	37	152.56 \pm 3.55

Grup I: Östrus senkronizasyonu yapılan grup, Grup II: Herhangi bir uygulama yapılmayan, doğal östrusta çiftleştirilen grup.

Tablo 2. Abaza keçilerinde bazı reproduktif parametreler
Table 2. Some reproductive parameters in Abaza goats

Parametreler	Gruplar	N/Total	%
İlk östrusta gebe kalan keçi sayısı	Grup 1	11 / 15	73,33
	Grup 2	22 / 25	88
	Total	33 / 40	82,50
Toplam gebe kalan keçi sayısı	Grup 1	14 / 15	93,33
	Grup 2	24 / 25	96
	Total	38 / 40	95
Doğum yapan keçi sayısı	Grup 1	13 / 15	86,67
	Grup 2	24 / 25	96
	Total	37 / 40	92,50
Yavruyu sorunsuz sahiplenme	Grup 1	13 / 13	100
	Grup 2	24 / 24	100
	Total	37 / 37	100
Prematüre doğum	Grup 1	1 / 14	7,14
	Grup 2	0 / 24	0
	Total	1 / 37	2,70
Güç doğum	Grup 1	0 / 13	0
	Grup 2	1 / 24	4,17
	Total	1 / 37	2,70
Foliküler kist	Grup 1	1 / 15	6,66
	Grup 2	0 / 25	0
	Total	1 / 40	2,50
Ölü doğum, abort, retentiosecundinarum, prolapsusvagina-uteri, metritis-endometritis, mastitis	Total	0 / 40	0
Doğum başına oğlak sayısı	Total	1,64	-
Oğlak verimi	Total	61 / 37	164,86

Grup I: Östrus senkronizasyonu yapılan grup, Grup II: Herhangi bir uygulama yapılmayan, doğal östrusta çiftleştirilen grup.

Tablo 3. Abaza keçilerinde doğum saatleri
Table 3. Birth hours in Abaza goats

Doğum Saatleri	Gruplar	N / Total	%
00.00-05.59	Grup 1	1 / 13	7,69
	Grup 2	0 / 24	0
	Total	1 / 37 ^a	2,70
06.00-12.00	Grup 1	11 / 13	84,62
	Grup 2	16 / 24	66,67
	Total	27 / 37 ^c	72,98
12.01-18.00	Grup 1	2 / 13	15,38
	Grup 2	6 / 24	25
	Total	8/37 ^b	21,62
18.01-23.59	Grup 1	0 / 13	0
	Grup 2	1 / 24	4,34
	Total	1/37 ^a	2,70

Grup I: Östrus senkronizasyonu yapılan grup, Grup II: Herhangi bir uygulama yapılmayan, doğal östrusta çiftleştirilen grup. ^{a,b,c}: Doğum saatleri arasında istatistiksel değer P<0.001.

Tablo 4. Abaza keçilerinde doğum tipi
Table 4. Birth type in Abaza goats

Doğum tipi	Gruplar	Doğuran Keçi / Total (%)	Oğlak Cinsiyeti	
			Erkek	Dişi
Tekiz	Grup 1	6 / 15 (40,00)	4 / 6	2 / 6
	Grup 2	21 / 25 (84,00)	10 / 21	11 / 21
	Total	27 / 40 (67,50)	14 / 27	13 / 27
İkiz	Grup 1	7 / 15 (53,34) ^a	8 / 14	6 / 14
	Grup 2	3 / 25 (12,00) ^b	2 / 6	4 / 6
	Total	10 / 40 (25,00)	10 / 20	10 / 20
Total		37 / 40	24 / 47	23 / 47

Grup I: Östrus senkronizasyonu yapılan grup, Grup II: Herhangi bir uygulama yapılmayan, doğal östrusta çiftleştirilen grup. ^{a,b}: Gruplardaki ikiz doğum oranları arasındaki istatistiksel fark P=0.005

Tablo 5. Oğlaklarda yaşama gücü
Table 5. Viability in kids

Yavrulama şekli	Cinsiyete Göre Mortalite			Mortalite Zamanı		
	Dişi oğlak (%)	Erkek oğlak (%)	Toplam (%)	İlk 7 gün (%)	7-15 gün (%)	15-30 gün (%)
Tekiz	0/13 (0)	0/14 (0)	0/27 (0)	0/3 (0)	0/3 (0)	0 / 3 (0)
İkiz	1/10 (10,00)	2/10 (20,00)	3/20 (15,00)	1/3 (33,33)	0/3 (0)	2 / 3 (66,67)
Toplam	1/23 (4,35)	2/24 (8,33)	3/47 (6,38)*	1/3 (33,33)	0/3 (0)	2 / 3 (66,67)

*Premature doğum sonrası ölümler dahil edilmemiştir.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Küçük ruminantlarda üremenin denetlenmesinin amacı, hayvanların belirli bir zaman diliminde tohumlanması ve doğumların aynı dönem içerisinde gerçekleşmesini sağlamaktır. Bu uygulamalar östrus görülme oranı, ovulasyon oranı, gebelik oranı, kuzulama oranı ve fekundite oranını yükseltmek içindir (Kaçar ve ark. 2016). Özellikle Artvin ili ve ilçelerinde yetiştirilen Abaza keçilerinin reproduktif parametreleri ve oğlakların yaşama gücüyle alakalı literatür bilgisi yoktur. Bu çalışmayla Abaza keçilerinin ilk kez bazı reproduktif parametreleri kayıt altına alınmıştır. Keçilerde CIDR senkronizasyon amacıyla sıklıkla kullanılan progesteron taşıyan aparatlardandır (Abecia ve ark. 2012). Nubian keçilerinde yapılan bir çalışmada östrus senkronizasyonu için CIDR kullanılmış ve östrus süresi ortalama 39,2 saat olarak belirlenmiştir (Romano 2004). Keçilerde ise ırklar arası farklılık olabileceği ve ortalama östrus süresinin 28 saat (Gordon 1997) veya 24-48 saat arasında değişebileceği bildirilmektedir (Kalkan ve Horoz 2015). Yapılan bu çalışmada ise Abaza keçilerinin ortalama östrus süresinin $25,5 \pm 2,9$ saat olarak

bulundu. Ayrıca gebelik süresinin ortalama 152,56 gün olduğu görüldü. Keçilerin ortalama gebelik süresinin 148 gün olduğu fakat 140-159 (Güler 2010) veya 147-155 gün (Smith 2007) arasında bu sürenin değişebileceği bildirilmektedir. Östrus süresinin Kalkan ve Horoz (2015) ile benzer diğer literatürlerdeki veriden (Gordon 1997, Romano, 2004) daha düşük olduğu görüldü. Bu farklılıklar ırk özelliklerinden kaynaklanmış olabilir. Bornova keçilerinde yapılan bir çalışmada ilk östrusta gebe kalma oranı %99,07 olarak kaydedilmiştir (Şengonca ve ark. 2002). Yapılan bu çalışmada ise %82,5 (%73,33-%88) oranında ilk östrusta gebelik elde edildi. Şengonca ve ark. (2002) yaptıkları çalışmada gebelik oranının yüksek olması teke katımından önce ek yemleme yapılmış olmasından kaynaklanmış olabilir. Alačam ve ark. (1999) üreme mevsiminde Ankara keçileriyle yaptıkları çalışmada, östrusları arama tekesiyle belirledikleri kontrol grubunda (herhangi bir hormon uygulaması yapılmayan grup) gebelik ve doğum oranlarının %81,25 olduğunu bildirmişlerdir. Yine yapılmış çeşitli çalışmalarda %90,04 (Bolacalı ve Küçük 2012) ve %94,78 (Erten ve Yılmaz 2013) oranında gebelik elde edilmiştir. Yaptığımız çalışmada da toplam gebelik oranının %95 olarak belirlendi. Elde ettiğimiz bu oranın

Bolacalı ve Küçük (2012) ile Erten ve Yılmaz (2013)'ın bildirdiği değerlere benzer, Alaçam ve ark. (1999)'ın bildirdiği değerden yüksek olduğu gözükmektedir. Bu sonuçlara göre Abaza keçilerinde Ankara keçilerine göre östrus takibi ile elde sıfat çiftleştirilenin gebelik oranları karşılaştırıldığında daha avantajlı olabileceği kanısına varıldı. Yine keçilerde yapılan çalışmalarda %81,27 (Bolacalı ve Küçük 2012) ve %85,89 (Erten ve Yılmaz 2013) doğum oranları tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışmada ise doğum yapan keçi oranının %92,5 olduğu belirlendi. Elde ettiğimiz doğum oranının çalışmalardan yüksek olduğu görülmektedir. Bildirilen çalışmalarda abort vakalarının gözlenmesi, çevre ve besleme farklılıkları doğum oranlarını etkileyebileceği düşünüldü. Güç doğum olgusu, anne ve yavru ölümlerini, sürüden çıkarma oranını ve infertiliteyi arttırdığından dolayı ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Koyun ve keçilerde güç doğum görülme oranının ortalama %3-5 arasında değiştiği bildirilmektedir (Noakes ve ark. 2008, Kuru ve ark. 2016b). Yapılan bu çalışmada ise %2,7 oranında güç doğum ve yine benzer oranlarda prematüre doğum tespit edildi. Elde edilen bu oranların çalışmalarıyla uyumlu olduğu görüldü. Keçilerde infertilite problemlerinden olan ovarian kistlerin %2,4 oranında oluşabileceği kaydedilmiştir. Bunun yanında birçok enfektif veya non-enfektif nedenlerden etkilenen ve insidensi değişebilen ölü doğumlar için keçilerde net bir ifade yoktur. Özellikle enfektif ajanların gebelik döneminde ölü doğum oranlarını arttırdığı bildirilmektedir. Ayrıca retentio secundinarumun keçilerde pek sık rastlanılan bir olgu olmadığı ifade edilmektedir (Edmondson ve ark. 2012). Oral ve Kuru (2016) kısmi veya tam prolapsus vaginanın keçilere göre koyunlarda daha yüksek olmakla birlikte, %1 veya daha az oranda şekillenebileceğini, prolapsus uterinin ise %0,1 oranında görülebileceğini ifade etmişlerdir. Metritis veya endometritislerin genellikle retentio secundinarum kaynaklı olabileceği ve pek sık rastlanılmadığı bildirilmiştir (Smith ve Sherman 2009). Özellikle süt verimini etkileyen mastitislerin ise keçilerde en fazla %5 oranında olabileceği ve insidensin sütçü sığırlar kadar yüksek olmadığı bildirilmektedir (Plummer ve Plummer 2012). Yapılan bu çalışmada folliküler kist %2,5 oranında tespit edilirken; ölü doğum, abort, retentio secundinarum, prolapsus vagina-uteri, metritis-endometritis ve mastitis gibi problemlerle karşılaşılmamıştır. Folliküler kist görülme oranının belirtilen sınırlara yakın olduğu, diğer problemlerin ifade edilen oranlara göre düşük olduğu görüldü. Bunun da hayvan sayısının azlığından kaynaklanabileceği, bu tip insidens çalışmalarında daha fazla sayıda hayvanın kullanılmasına ihtiyaç duyulduğu görülmektedir. Fakat Abaza keçisi yetiştiriciliğinin yaygın olmaması ve çok sınırlı sayıda

yetiştiriciliğinin yapılması böylesi geniş kapsamlı çalışmaların yapılmasına pek imkan vermemektedir.

Keçilerin doğum zamanlarına (gündüz veya gece) yönelik bazı çalışmalar yapılmıştır. Saanen, Toggenburg (Lickliter 1985) ve Albin ırkı keçilerin daha çok gündüz doğum yaptıkları saptanmıştır (Bosc ve ark. 1988). Nubian keçilerinde yapılan çalışmada doğumların %78,1 gündüz ve %21,9 oranında gece şekillendiği belirlenmiştir (Romano 2004). Konyalı ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada Türk Saanen keçilerinin doğumlarını %88,1 oranında 06.00-18.00 saatleri arasında gerçekleştiği bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada da benzer şekilde Abaza keçilerinin gündüz doğum yaptıkları gözlemlendi. Doğumların çoğunlukla 06.00-12.00 ve 12.01-18.00 arasında olduğu belirlendi (%72,98 ve %21,62). Elde edilen bulguların çalışmalarıyla uyumlu olduğu görüldü. Ankara keçilerinde yapılan bir çalışmada senkronizasyon uygulamasının ikizlik oranını arttırabileceği kaydedilmiştir. İlgili çalışmada kontrol grubuna göre uygulama grubunda iki kat daha fazla ikiz doğumlar olmuştur (Alaçam ve ark. 1999). Abaza keçilerinde ise yapılan çalışmaya benzer şekilde ikizlik oranı senkronizasyon uygulamasıyla artış göstermiştir (P=0,005). Elde edilen sonuçlarda senkronizasyon yapılan grupta %64,66 tekiz ve %53,34 ikiz doğum, diğer grupta ise %88 tekiz ve %12 ikiz doğum olmuştur. Saanen gibi yüksek verimli keçi ırklarında ise ikizlik oranının daha yüksek olduğu görülmektedir (Bolacalı ve Küçük 2012). Yapılan çalışmalarda Erten ve Yılmaz (2013) %17,91, Odabaşı ve ark. (2007) %13,7-%20,6, Bolacalı ve Küçük (2012) %54,84 oranında değişebilen ikiz doğum tespit etmişlerdir. Yaptığımız çalışmada ise genel olarak %25 oranında ikiz doğum belirlenmiştir. Bu oran yurdumuzda yetiştiriciliği yapılan yerli ırk keçilere göre yüksek bulunmuştur. Fakat özellikle yüksek verimli keçiler (Saanen gibi) ve bu keçilerin melezlerine göre düşük olduğu görülmektedir. Ayrıca Abaza keçilerinde östrus senkronizasyonu amacıyla kullanılacak protokollerde PMSG hormonunun tercih edilmesi ikizlik oranının olumlu yönde etkileyeceği ön görülmektedir. Keçilerde yapılan bazı çalışmalarda doğumda oğlak cinsiyetinin istatistiksel olarak önemli olmadığı ifade edilmiştir. Yapılan çalışmada %47,05 dişi ve %52,94 oranında erkek oğlak doğumunun olduğu belirtilmiştir (Alaçam 1999). Yaptığımız çalışmada ise Abaza keçilerinde doğan oğlakların %48,94'ü dişi ve %51,06'sının erkek olduğu belirlendi. Elde edilen bulguların belirtilen çalışma bulguları ile benzer olduğu görüldü. Yapılan bu çalışmada oğlakların yaşama gücü en önemli süreçlerden olan neonatal dönemi kapsayacak şekilde ilk ay takip edilmiştir. Bu süreç içerisinde dişi oğlaklarda %4,35 oranında mortalite şekillendi. Genel olarak ise ilk aydaki mortalite oranı %6,38'dir. Ölümlerin büyük çoğunluğunun 15-30. günler arasında olduğu belirlendi. Şam keçilerinde yapılan bir çalışmada

doğum sırasında mortalite oranının %4-24 ve süttten kesime kadarki süreçte ise %3-18 arasında değişim gösterebildiği ifade edilmiştir. Erkek ve dişi oğlaklarda mortalite oranlarının istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca erkek oğlaklarda %7 ve dişi oğlaklarda %5 ölüm tespit edilmiştir (Al-Najjar ve ark. 2010). Yine yapılan bir anket çalışmasında ölümlerin %57,3'ü ilk 7 günde, %20,9'u ise süttten kesim zamanına kadar olduğu kaydedilmiştir (Koyuncu ve ark. 2006). Yaptığımız çalışmada elde edilen bulguların bildirilen çalışmalara benzer olduğu görülmektedir. Ayrıca yaptığımız çalışmada ilk hafta mortalite oranı daha düşük bulunmuştur. Bu da iyi bakım ve beslemeden kaynaklanmış olabilir. Çalışmada kullanılan hayvan sayısının az olmasına rağmen sayısal olarak en yüksek mortalite oranının 15-30 gün aralığında olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak, yoğun kış şartlarının yaşandığı Kafkaslarda, yetiştiriciliği yapılan Abaza keçilerinde progesteron destekli östrus senkronizasyonunun üretime olumlu katkıda bulunduğu ve ikizliği arttırdığı tespit edildi. Bununla birlikte üreme sezonunda yapılan takiplerde Abaza keçilerinin pek fazla reprodüktif sorun yaşamadığı, doğumlarını çoğunlukla gündüz yaptıkları, doğal östrusta çiftleştirildiklerinde ikiz doğumların tekiz doğumlara oranla daha az olduğu belirlendi. Ayrıca Abaza keçilerinin verim performansına yönelik yeni çalışmaların yapılması gerektiği ve sayılarının artırılması için yetiştiricilerin teşvik edilmesi gerektiği kanısındayız.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından desteklenmiştir (Proje no: 112O193).

KAYNAKLAR

- Abecia JA, Forcada F, Gonzalez-Bulnes A.** Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Anim Reprod Sci.* 2012; 130: 173-179.
- Alaçam E, Güven B, Ali Ay, Saban E.** Effect of gonadoreline administration on blood progesterone, oestradiol 17 β concentration and some fertility parameters in Angora goats. *Turk J Vet Anim Sci.* 1999; 23: 77-82.
- Al-Najjar K, Salhab S, Merestani R, Kasem R, Al-Azzawi W, Dawa M, Hussain O, Saatçı M.** Environmental factors affecting kid mortality in Shami goats. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2010; 16: 431-435.
- Anonim.** Abaza keçisi koruma altında, Artvin İl Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü (28.11.2016).
- <http://artvin.tarim.gov.tr/Haber/335/Abaza-Kecisi-Koruma-Altinda>. Erişim tarihi: 18.06.2017
- Arı UÇ, Kulaksız R, Kuru M, Yıldız S, Atakişi E, Lehimcioğlu NC, Öztürkler Y.** Comparisons of spermatologic-andrologic parameters and testosterone-phospholipase A2 levels during breeding and non-breeding seasons in Abasian goats. *Reprod Dom Anim* 2016, 51(Suppl 2): 71.
- Batu S.** Türkiye Keçi Irkları. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, Ankara, 1951.
- Bolacalı M, Küçük M.** Fertility and milk production characteristics of Saanen goats raised in Muş region. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2012; 18: 351-358.
- Bosc M, Guillimin P, Bourgy G, Pignon P.** Hourly distribution of time of parturition in the domestic goat. *Theriogenology* 1988; 30: 23-33.
- Edmondson MA, Roberts JF, Baird AN, Bychawski S, Pugh DG.** *Theriogenology of sheep and goats.* In: Sheep and Goat Medicine, Ed; Pugh DG, Baird AN, 2nd Edition, Elsevier Saunders, Missouri, 2012; pp. 150-230.
- Erten Ö, Yılmaz O.** Ekstansif koşullarda yetiştirilen Kıl keçilerinin döl ve süt verimi özelliklerinin araştırılması. *YYU Vet Fak Derg.* 2013; 24: 105-107.
- Gordon I.** *Controlled Reproduction in Sheep and Goats.* Cab International, UK, 1997.
- Güler M.** Gebelik fizyolojisi, In: Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite, Ed; Alaçam E, Medisan, Ankara, 2010; pp. 99-108.
- Kaçar C, Kaya S, Kuru M, Zonturlu AK.** Koyun ve keçilerde üremenin denetlenmesinde güncel yöntemler. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Obstet Gynecol-Special Topics* 2016; 2: 29-37.
- Kalkan C, Horoz H.** Pubertas ve seksüel sikluslar. In: Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite, Ed; Alaçam E, 8. Baskı, Medisan, Ankara, Türkiye, 2015; pp. 23-40.
- Konyalı A, Tölü C, Daş G, Göncü C, Savaş T.** Keçilerde doğum davranışlarına ilişkin bir araştırma. *Tarım Bilimleri Dergisi* 2004; 10: 397-401.
- Koyuncu E, Pala A, Savaş T, Konyalı A, Ataşoğlu C, Daş G, Ersoy İE, Uğur U, Yurtman İY, Yurt HH.** Çanakale koyun ve keçi yetiştiricileri birliği üyesi keçicilik işletmelerinde teknik sorunların belirlenmesi

- üzerine bir araştırma. Hayvansal Üretim 2006; 47: 21-27.
- Kuru M, Kükürt A, Kulaksız R, Oral H, Çetin N, Karapehlivan M.** Controlled internal drug release use for synchronization on paraoxonase activities and total sialic acid levels in Abasian goats. *J Cell Neurosci Oxid Stress* 2016a; 8: 544.
- Kuru M, Mülazımoğlu SB, Kaya D.** Koyun ve keçilerde güç doğumlar. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Obstet Gynecol - Special Topics* 2016b; 2: 74-77.
- Kuru M, Oral H, Kulaksız R.** Determination of gestational age in Abasian and Georgian goats where some embryonic and fetal parameters were measured ultrasonography. 12th International Conference on Goats, Antalya, Turkey, 25-30 September, 2016c; pp. 193.
- Kuru M, Öğün M, Oral H, Kükürt A, Erkilic EE, Kulaksız R.** Synchronization with controlled internal drug release (CIDR) on exacerbate oxidative and nitrosative stress and leptin levels in Abasian goats. 12th International Conference on Goats, Antalya, Turkey, 25-30 September 2016d; pp. 191.
- Kuru M, Merhan O, Erkilic EE, Kükürt A.** Abaza keçilerinde erken laktasyonda kolostrum/süt haptoglobulin ve amyloid A düzeyleri. 8. Ulusal Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi, Bursa, Türkiye, 22-24 Eylül 2016e; Syf. 74-75.
- Lickliter RE.** Behavior associated with parturition in the domestic goat. *Appl Anim Behav Sci.* 1985; 13: 335-345.
- Noakes DE, Parkinson TJ, England GCW.** General considerations, the approach to an obstetric case, Maternal dystocia: Causes and treatment, Fetal dystocia: Aetiology and incidence. In: *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*, Ed; Noakes DE, Parkinson TJ, England GCW, 8th Edition, Saunders Elsevier, China, 2008; pp. 205-263.
- Oral H, Kuru M.** Koyun ve keçilerde klinik ve deneysel reproduktif cerrahi. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Obstet Gynecol - Special Topics* 2016; 2: 83-88.
- Plummer PJ, Plummer C.** Theriogenology of sheep and goats. In: *Sheep and Goat Medicine*, Ed; Pugh DG, Baird AN, 2nd Edition, Elsevier Saunders, Missouri, 2012; pp. 442-465.
- Romano JE.** Synchronization of estrus using CIDR, FGA or MAP intravaginal pessaries during the breeding season in Nubian goats. *Small Ruminant Res.* 2004; 55: 15-19.
- Sezgin E, Kopuzlu S, Yüksel S.** Abaza keçisi. *Ulusal Keçicilik Kongresi, Çanakkale*, 2010; pp. 241-244.
- Smith MC.** Clinical reproductive physiology and endocrinology of does, In: *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*, Ed; Youngquist RS, Threlfall WR, 2nd Edition, Saunders-Elsevier, Missouri, 2007, pp. 535-537.
- Smith MC, Sherman DM.** *Goat Medicine.* 2nd Edition. Wiley-Blackwell, Iowa, 2009.
- Şengonca M, Kaymakçı M, Koçum N, Taşkın T, Steinbach J.** Batı Anadolu için bir süt keçisi: Bornova keçisi. *Hayvansal Üretim* 2002; 43: 79-85.

Ratlarda Gentamisin İle İndüklenmiş Oksidatif Streste Borun Muhtemel Koruyucu Etkisinin Dokularda Araştırılması[#]

İsmail KÜÇÜKKURT¹, Damla ARSLAN-ACARÖZ^{1*}, Hasan Hüseyin DEMİREL²,
Sinan İNCE³, Abdullah ERYAVUZ⁴

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, AFYONKARAHİSAR

²Afyon Kocatepe Üniversitesi Bayat MYO Laborant ve Veteriner Sağlık Bölümü, AFYONKARAHİSAR

³Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, AFYONKARAHİSAR

⁴Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, AFYONKARAHİSAR

[#]Bu çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 16.KARİYER.142 proje numarası ile desteklenmiştir.

*Corresponding author e-mail: damlaarslan06@hotmail.com

ÖZ

Çalışmada gentamisin maruziyeti ile toksisite oluşturulan ratlarda borun (B) muhtemel koruyucu etkisinin belirlenmesi amaçlandı. Bu amaçla Wistar albino 56 erkek rat kullanıldı. Her grupta 7 hayvan olacak şekilde, kontrol, gentamisin (100 mg/kg i.p.), B-5 (5 mg/kg B, i.p.), B-10 (10 mg/kg B, i.p.), B-20 (20 mg/kg B, i.p.), B-5 + gentamisin (5 mg/kg B ve 100 mg/kg gentamisin, i.p.), B-10 + gentamisin (10 mg/kg B ve 100 mg/kg gentamisin, i.p.), B-20 + gentamisin (20 mg/kg B ve 100 mg/kg gentamisin, i.p.) olarak 8 gruba ayrıldı. Ratlara B uygulaması gentamisin enjeksiyonundan 4 gün önce vermeye başlandı. Gentamisin uygulamasına 4. gün başlandı ve 12. gün bu uygulama sonlandırıldı. Gentamisin uygulamasının bitişinden itibaren hayvanlara 2 gün daha B verildi. Uygulama sonunda hayvanlardan anestezi altında karaciğer, kalp, beyin, akciğer ve testis dokuları alındı. Gentamisin karaciğer dokusunda malondialdehid düzeylerini arttırdığı, buna karşın redükte glutatyon düzeylerini, superoksit dismutaz ve katalaz aktivitelerini azalttığı tespit edildi. Histopatolojik incelemede gentamisin dokularda hasar oluşturduğu gözlemlendi. Buna karşın, B uygulamasının gentamisin ile indüklenen hasarı azalttığı tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Bor, Gentamisin, Histopatoloji, Lipid Peroksidasyon, Oksidatif Stres, Rat

Potential Protective Effect of Boron Against Gentamicin-Induced Oxidative Stress on Rat Tissues

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the protective effects of boron on gentamicin induced toxicity in rats. Rats were divided into eight experimental groups containing seven animals in each group. Experimental groups were as follows; control group (fed without B), gentamicin group (100 mg/kg, i.p.), B-5 group (5 mg/kg B, i.p.), B-10 group (10 mg/kg B, i.p.), B-20 group (20 mg/kg B, i.p.), B-5 + gentamicin group (5 mg/kg B and 100 mg/kg gentamicin, i.p.), B-10 + gentamicin group (10 mg/kg B and 100 mg/kg gentamicin, i.p.), and B-20 + gentamicin group (20 mg/kg B and 100 mg/kg gentamicin, i.p.). B was given to rats before four days. Gentamicin was given to rats on the fourth day and finished on the twelfth day. Also, administration of B was completed the fourteenth day. End of the experiment, liver, hearth, brain, lung, and testis tissues were collected from animals under anaesthesia. Administration of gentamicin increased malondialdehyde levels whereas decreased reduce glutathione levels, superoxide dismutase and catalase activities in the liver. Histopathologically, damages were detected in the tissues of gentamicin group. However, treatment of boron resulted in a reversal of gentamicin-induced damages.

Key Words: Boron, Gentamicin, Histopathology, Lipid Peroxidation, Oxidative Stress, Rat

To cite this article: Küçük Kurt İ., Arslan-Acaröz D., Demirel H.H., İnce S., Eryavuz A. Ratlarda Gentamisin İle İndüklenmiş Oksidatif Streste Borun Muhtemel Koruyucu Etkisinin Dokularda Araştırılması. *Kocatepe Vet. (2017) 10(3): 172-179.*

GİRİŞ

Antibiyotikler; bakteri, mantar ve aktinomisetler gibi canlı mikroorganizmalar tarafından sentezlenen, düşük yoğunlukta bile bakteri gelişimini etkileyen ya da onları öldüren maddelerdir. Antibiyotikler; sitoplazmik zarın geçirgenliğini değiştirerek, hücre duvarı sentezini engelleyerek, nükleik asit sentezini önleyerek, ara metabolizmayı bozarak ve protein sentezini engelleyerek bakteri hücrelerinde etkilerini gösterirler (Şener, 1990; Dökmeci ve ark., 1992; Şanlı ve Kaya, 1994). Gentamisin, organik polikasyon yapıya sahip olan bir antibiyotiktir (Hancock ve ark., 1981). Bununla birlikte *Micromonospora purpurea*'dan elde edilen gentamisin aminoglikozid ilaçlar içinde amikasinin sonra, spektrumu en geniş ve antibakteriyel etki gücü en yüksek olan ilaçtır. Mikroorganizmalar üzerinde bakterisid etki meydana getirmektedir. Özellikle *Enterobacteriaceae* grubu (*Klebsiella*, *E. Coli*, *Aerobacter* vb.) bakteriler ile *Pseudomonas aeruginosa* gibi gram negatif basiller ve metisiline dirençli *S. aureus* suşları üzerinde etkilidir (Lode ve ark., 1998). Gentamisin, özellikle veteriner ve insan hekimliğinde bilhassa gram negatif bakteriyel enfeksiyonlara karşı yaygın olarak kullanılmaktadır (Nakajima ve ark., 1994; Cuzzocrea ve ark., 2002). Etkin ve ucuz olması nedeniyle klinikte kullanımı önem taşımaktadır (Duff ve ark., 1983; Briggs ve ark., 1989). Birçok hastalığın tedavisi sırasında ilaçların kullanımı sonucunda oksidatif strese bağlı bazı komplikasyonlar oluşabildiği bilinmektedir. Ayrıca oluşan oksidatif stresin sadece tek bir organı değil başka organları da etkilediği araştırmalarla ortaya konmuştur. Hastalıkların tedavisinde kullanılan ve vücutta en fazla serbest radikal oluşumunu tetikleyen ilaçlardan birisi de gentamisindir. Bunun oluşturduğu oksidatif stres doza bağımlı olarak değişebilmektedir. Bu bağlamda gentamisin metabolize olurken organizmada aşırı serbest radikal oluşumunu tetiklemektedir (Ateşşahin ve ark., 2003; Karahan ve ark., 2005). Son yıllarda daha çok borun eklem ve kemik sağlığı açısından önemi üzerinde durulmaktadır. Ayrıca beyin fonksiyonları ve bazı hormonlara etkisi ile ilgili çalışmalar da yapılmaktadır (Bilgiç ve Dayık, 2013; Kucukurt ve ark., 2015). Bor (B) özellikle kemik ve dişlerin yapısında bulunmaktadır (McCoy ve ark., 1994). B vücutta kalsiyum, magnezyum ve fosfor absorpsiyonunu dengeleyici rolü ile kemik sağlığı açısından önemli bir elementtir. Nitekim günlük B takviyesinin östrojen etkisini artırarak osteoporoz tedavisinde etkili olduğu belirlenmiştir (Nielsen ve ark., 1987). Yapılan bir başka çalışmada koroner kalp hastalıklarına iyi geldiği ve yüksek dansiteli lipoproteinde azalmaya yol açtığı (Samman ve ark., 1998) ifade edilmektedir. Bu çalışmalardan anlaşılacağı üzere çeşitli hastalıklarda ve deney hayvanlarıyla oluşturulan hastalık ve toksikasyon modellerinde B'un antioksidan sistemi destekleyerek oksidatif stresi azalttığı ve böylelikle tedavilere katkı sağlayabildiği anlaşılmaktadır. Sunulan çalışmanın literatür kısmında belirtildiği üzere, antimikrobiyel tedavide kullanılan gentamisinin, tedaviyi sınırlandıran yan etkilerinin ortaya çıkmasında oksidatif stres ve inflamasyonun öncelikle etkili olduğu düşünülmüşse, gentamisinle tedavideki yan etkilerin B ile hafifletilebileceği düşünülmektedir. Yapılan literatür taramaları sonucunda konuya ilişkin herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Birçok çalışmada oksidatif strese karşı antioksidan ajanların etkisi araştırılmıştır

(Turkez ve ark., 2007; Ince ve ark., 2010). Bu araştırmada oksidan özelliğe sahip gentamisin maruziyetine karşı son yıllarda antioksidan madde olarak kullanılan B'un, olası koruyucu etkisinin belirlenmesi amaçlandı. Bu amaçla; karaciğer, beyin, akciğer, kalp ve testis dokularında malondialdehid (MDA), redükte glutasyon (GSH), superoksid dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktiviteleri belirlendi. Buna ilaveten, ışık elektron mikroskobuyla bu dokuların histopatolojik olarak analizleri gerçekleştirildi.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Çalışma boyunca hayvanlara yapılan tüm müdahaleler Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu tarafından bildirilen kurallar doğrultusunda 07/09/2016 tarihli ve 116 sayılı etik kurul onayı ile gerçekleştirildi. Hayvanların bakımı Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde gerçekleştirildi. Sunulan çalışmada gentamisin toksikasyonu oluşturmak amacıyla gentamisin sülfat (Sigma, MO, USA) kullanıldı. Tedavi gruplarına uygulanacak B kaynağı olarak daha önceki çalışmalarda (Ince ve ark., 2012; 2014) belirtilen borik asit (Sigma, MO, USA) kullanıldı. Ayrıca deneysel çalışma boyunca hayvanlara özel olarak hazırlanan B içermeyen diyet verildi (Bourgeois ve ark., 2007). Analizi yapılacak parametrelerin belirlenmesi için kullanılacak kimyasallar ve kitler ilgili firmalardan temin edildi.

Deneysel aşama

Sunulan çalışmanın deney hayvanlarıyla çalışılan kısmı 14 gün olarak planlandı. Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edilen 10-12 haftalık yaşta 56 erkek rat (yaklaşık 150-200 g), her grupta 7 rat olacak şekilde rastgele örnekleme metodu ile 8 gruba ayrıldı. Tüm gruplarda bulunan deney hayvanları çalışma süresince özel olarak hazırlanan B içermeyen diyet ile beslendi. Gruplar kontrol, gentamisin (100 mg/kg i.p.), B-5 (5 mg/kg B, i.p.), B-10 (10 mg/kg B, i.p.), B-20 (20 mg/kg B, i.p.), B-5 + gentamisin (5 mg/kg B ve 100 mg/kg gentamisin, i.p.), B-10 + gentamisin (10 mg/kg B ve 100 mg/kg gentamisin, i.p.), B-20 + gentamisin (20 mg/kg B ve 100 mg/kg gentamisin, i.p.) olarak 8 gruba ayrıldı.

Bor ve gentamisin uygulamaları

Bor kaynağı olarak serum fizyolojik içinde çözdürülerek hazırlanan borik asit 5, 10 ve 20 mgB/kg dozlarda periton içi (i.p.) yolla (Ince ve ark., 2012; 2014) grup 3, 4 ve 5'te bulunan ratlara 14 gün süreyle ve borik asit 5, 10 ve 20 mgB/kg dozlarda i.p. yolla grup 6, 7 ve 8. gruptaki ratlara

gentamisin enjeksiyonundan 4. gün önce verilmeye başlandı ve gentamisin uygulamasının bitişinden itibaren 2 gün daha verildi. Enjeksiyona hazır hale getirilen gentamisin ise 100 mg/kg dozda (Atessahin ve ark., 2003; Luo, 2014) kontrol grubu dışındaki bütün gruplara i.p. yolla, B uygulamasından sonra 4. günde verilmeye başlandı ve 8 gün boyunca günde tek doz halinde uygulandı.

Çalışmanın sonlandırılması

Çalışmanın 14. günü gecesi ratlar aç bırakıldı. Oniki saat açlık sonrası ketamin (65 mg/kg, i.p.) - ksilazin (7 mg/kg, i.p.) anestezisi altında deney hayvanlarından analizler için gerekli doku örneklerinden yeterli miktarda alındı.

Homojenatların Hazırlanması

Hayvanlar sakrifiye edildikten sonra karaciğer, kalp, beyin, akciğer ve testis dokuları çıkarıldı ve soğuk % 0,9' luk NaCl ile iyice yıkandı. Dokuların her biri dondurulmuş 0,15 M Tris-HCl buffer (pH 7,4) içinde yabancı dokulardan uzaklaştırılarak kesildi. Bu dokular % 10 (w/v) homojenat elde edebilmek için 0,15 M Tris-HCl buffer (pH 7,4)'de homojenize edildi. Dokular 4 °C'de 10 dk 2500 g'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında elde edilen süpernatantlar ise -20 °C'de analiz edilinceye kadar saklandı (Kucukkurt ve ark., 2008).

Histopatolojik Analizler için Dokuların Hazırlanması

Çalışmanın sonunda, sakrifiye edilen 35 erkek rattan karaciğer, böbrek, beyin, akciğer, kalp ve testis dokuları histopatolojik analiz için % 10'luk formalin solüsyonu içine alındı ve % 10'luk formalin solüsyonunda 48 saat sabitlendi. Dereceli alkolden (% 70'den % 100'e) geçirilerek dokular dehidre edildi. Dokular ksilende temizlendikten sonra parafine gömüldü, 5-6 µm'lik kesitlere ayrıldıktan sonra hemotoksilen-eosinle (H&E) ile boyandı. Sonuç olarak her bir bölüm ışık mikroskopu altında (Olympus BX51 and DP20 eklenilmiş Mikroskopik Dijital Resim Analiz Sistemi, Tokyo, Japonya) incelendi.

Biyokimyasal Analizler

Dokuda malondialdehit (MDA) tayini, Okhawa ve ark. (1979)'nın metoduna göre belirlenmiştir. Redükte glutasyon (GSH) konsantrasyonu doku homojenatlarında Beutler ve ark. (1993) tarafından tanımlanan metot kullanılarak ölçüldü. Doku homojenatında superoksit dismutaz (SOD) aktivitesi Sun ve ark. (1988)'nin metoduna göre ölçüldü. Doku homojenatında katalaz (CAT) aktivitesi Aebi (1974)'nin metoduna göre belirlendi. Dokudaki protein içeriği Lowry ve ark. (1951)'nin

kolorimetrik metoduna göre test edildi. Spektrofotometrik ölçümler Shimadzu 1601 UV-VIS spektrofotometresi (Tokyo, Japonya) kullanılarak gerçekleştirildi.

İstatistiksel Analiz

Araştırmadan elde edilen sonuçlara, SPSS 20.0 istatistik paket programında tek yönlü ANOVA testi uygulandı. İstatistiksel fark bulunan sonuçlara Duncan testi uygulandı ve veriler "ortalama ± standart sapma" olarak ifade edildi. İstatistiksel anlamlılık için p < 0.05 kabul edildi.

BULGULAR

Lipid Peroksidasyon ve İndirgenmiş Glutasyon Üzerine Etkisi

Gentamisin uygulanan ratlar kontrolle kıyaslandığında karaciğer MDA düzeylerinde belirgin bir artış gözlemlendi (p<0.05). Buna karşın, B'un artan dozuna bağlı olarak, B verilen gentamisin gruplarında (Tablo 1) karaciğer dokularında MDA düzeyinin oldukça azaldığı belirlendi (p<0.05). Gentamisin grubunun karaciğer GSH düzeyleri kontrol grubundan daha düşük bulundu (p<0.05). Buna karşın, doza bağlı olarak bor gruplarında karaciğer dokularında GSH düzeyleri gentamisin grubundan daha yüksek bulundu (p<0.05) (Tablo 2). Diğer dokularda, MDA ve GSH düzeyleri yönünden gruplar arasında önemli bir fark saptanmadı (P>0.05).

Antioksidan Enzimlere Etkisi

Antioksidan enzimlerden SOD ve CAT aktiviteleri ratların karaciğer, kalp, beyin, akciğer ve testis dokularında Tablo 3 ve 4'te gösterildiği gibi belirlendi. Gentamisin grubu kontrolle kıyaslandığında, SOD ve CAT aktivitesi karaciğer dokularında düşük bulundu (p<0.05). Buna karşın, artan miktarlarda B uygulamasının, gentamisin ile indüklenen karaciğerdeki SOD ve CAT aktivite değişikliklerini kontrol grubunda elde edilen verilere doğru yaklaştırdığı gözlemlendi (p<0.05). Diğer dokularda, antioksidan enzim düzeyleri yönünden gruplar arasında önemli bir fark saptanmadı (P>0.05).

Histopatolojik Değişiklikler

Deney gruplarındaki hayvanlara ait organlarındaki histopatolojik değişiklikler ayrıntılı olarak tanımlanmış ve Şekil 1'de gösterilmiştir. Gentamisin grubundaki hayvanların beyin dokularında neuronal dejenerasyon ile fokal gliozis (Şekil 1A5), akciğerlerinde interalveolar septal

dokuda kalınlaşma (Şekil 1B5), Kalp kası hücrelerinde hyalin dejenerasyon alanları ve nekrobiyotik değişiklikler (Şekil 1C5), karaciğerlerinde sinüzoidal dilatasyon ve hepatositlerde nekrobiyotik değişiklikler (Şekil 1D5), testis dokularında tubulus semineferus kontortus lumenlerinde spermatozoit yoğunluğunda azalma ve sertoli hücrelerinde

nekrobiyotik değişiklikler (Şekil 1E5) gözlemlendi. Gentamisin ve B verilen gruplarda, karaciğer, kalp, beyin, akciğer ve testis dokularında gentamisin grubuna kıyasla daha az histopatolojik değişim gözlemlendi (Şekil 1A-E,6,7,8 sırasıyla). Kontrol ve yalnız B verilen ratların karaciğer, kalp, beyin, akciğer ve testis dokularında önemli histopatolojik değişimler gözlenmedi (Şekil 1A-E1-4, sırasıyla).

Tablo 1. Erkek ratlarda 100 mg/kg dozunda gentamisin ve 100 mg/kg gentamisin + 5 (B5), 10 (B10) ve 20 (B20) mg/kg miktarlarında uygulanan boron (B) doku MDA düzeyleri üzerine etkisi

Table 1. Effects of gentamicin at dose 100 mg/kg and 100 mg/kg gentamicin + boron (B) at doses 5 (B5), 10 (B10) and 20 (B20) mg/kg on malondialdehyde levels of male rat tissues

Gruplar	Karaciğer (nmol/g doku)	Kalp (nmol/g doku)	Beyin (nmol/g doku)	Akciğer (nmol/g doku)	Testis (nmol/g doku)
Kontrol	3,24±0,76 ^d	2,90±0,25	1,22±0,19	0,55±0,08	0,39±0,09
Gentamisin	6,25±0,72 ^a	3,14±0,99	1,39±0,24	0,69±0,19	0,78±0,24
B-5	3,30±0,36 ^d	3,19±0,26	1,28±0,37	0,53±0,10	0,31±0,11
B-10	3,42±0,84 ^d	2,81±0,33	1,24±0,27	0,53±0,12	0,41±0,15
B-20	3,52±0,75 ^d	2,91±0,46	1,32±0,32	0,58±0,10	0,45±0,11
B-5 + Gentamisin	5,85±0,71 ^{ab}	3,13±0,34	1,30±0,45	0,78±0,11	0,52±0,14
B-10 + Gentamisin	4,68±1,23 ^c	3,07±0,66	1,33±0,37	0,59±0,11	0,49±0,15
B-20 + Gentamisin	5,19±0,43 ^{bc}	2,93±0,65	1,29±0,27	0,68±0,10	0,51±0,18

Ortalama ± standard sapma; n=7

a,b,c,d Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

Tablo 2. Erkek ratlarda 100 mg/kg dozunda gentamisin ve 100 mg/kg gentamisin + 5 (B5), 10 (B10) ve 20 (B20) mg/kg miktarlarında uygulanan boron (B) doku GSH düzeyleri üzerine etkisi

Table 2. Effects of gentamicin at dose 100 mg/kg and 100 mg/kg gentamicin + boron (B) at doses 5 (B5), 10 (B10) and 20 (B20) mg/kg on glutathione levels of male rats tissues

Gruplar	Karaciğer (nmol/g doku)	Kalp (nmol/g doku)	Beyin (nmol/g doku)	Akciğer (nmol/g doku)	Testis (nmol/g doku)
Kontrol	16,56±1,34 ^a	7,11±0,87	5,08±1,09	9,14±1,91	4,67±0,75
Gentamisin	4,04±1,47 ^c	6,43±0,40	4,04±0,63	8,88±1,15	4,07±0,71
B-5	7,39±1,19 ^c	6,21±1,56	4,13±0,87	9,71±0,80	4,65±0,58
B-10	11,5±1,20 ^b	6,82±0,78	4,07±0,70	9,21±1,59	4,71±0,64
B-20	11,23±0,97 ^b	7,00±1,15	4,60±0,93	9,50±1,30	4,93±0,90
B-5 + Gentamisin	5,72±0,72 ^d	6,22±0,59	4,22±0,52	9,16±1,70	4,33±0,69
B-10 + Gentamisin	5,27±0,61 ^d	6,44±0,80	4,82±0,51	9,11±1,30	4,32±0,77
B-20 + Gentamisin	7,29±0,73 ^c	6,70±1,04	4,96±0,41	9,22±1,16	4,63±0,72

Ortalama ± standard sapma; n=7

a,b,c,d,e Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

Table 3. Erkek ratlarda 100 mg/kg dozunda gentamisin ve 100 mg/kg gentamisin + 5 (B5), 10 (B10) ve 20 (B20) mg/kg miktarlarında uygulanan borun (B) doku SOD düzeyleri üzerine etkisi

Table 3. Effects of gentamicin at dose 100 mg/kg and 100 mg/kg gentamicin + boron (B) at doses 5 (B5), 10 (B10) and 20 (B20) mg/kg on superoxide dismutase activities of male rats tissues

Gruplar	Karaciğer (U/ μ g protein)	Kalp (U/ μ g protein)	Beyin (U/ μ g protein)	Akciğer (U/ μ g protein)	Testis (U/ μ g protein)
Kontrol	8,26 \pm 0,91 ^a	12,98 \pm 1,15	11,93 \pm 0,81	8,90 \pm 0,81	12,62 \pm 1,95
Gentamisin	5,35 \pm 0,74 ^e	11,81 \pm 0,88	11,65 \pm 1,01	8,55 \pm 0,44	11,87 \pm 1,13
B-5	6,90 \pm 0,55 ^{bc}	12,34 \pm 0,70	11,23 \pm 1,12	8,78 \pm 1,07	11,25 \pm 1,24
B-10	7,22 \pm 0,73 ^{bc}	13,06 \pm 1,18	11,44 \pm 1,19	8,53 \pm 0,68	11,70 \pm 1,75
B-20	7,58 \pm 1,25 ^{ab}	12,56 \pm 0,82	11,53 \pm 0,66	8,60 \pm 0,97	12,15 \pm 2,27
B-5 + Gentamisin	5,78 \pm 0,65 ^{de}	12,44 \pm 0,96	11,06 \pm 0,91	8,83 \pm 0,88	11,87 \pm 1,70
B-10 + Gentamisin	6,47 \pm 0,76 ^{cd}	12,85 \pm 0,84	11,43 \pm 0,70	8,21 \pm 0,82	12,73 \pm 1,16
B-20 + Gentamisin	6,24 \pm 1,22 ^{cde}	12,37 \pm 0,70	11,84 \pm 1,11	8,30 \pm 0,97	11,65 \pm 1,88

Ortalama \pm standard sapma; n=7

^{a,b,c,d,e} Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

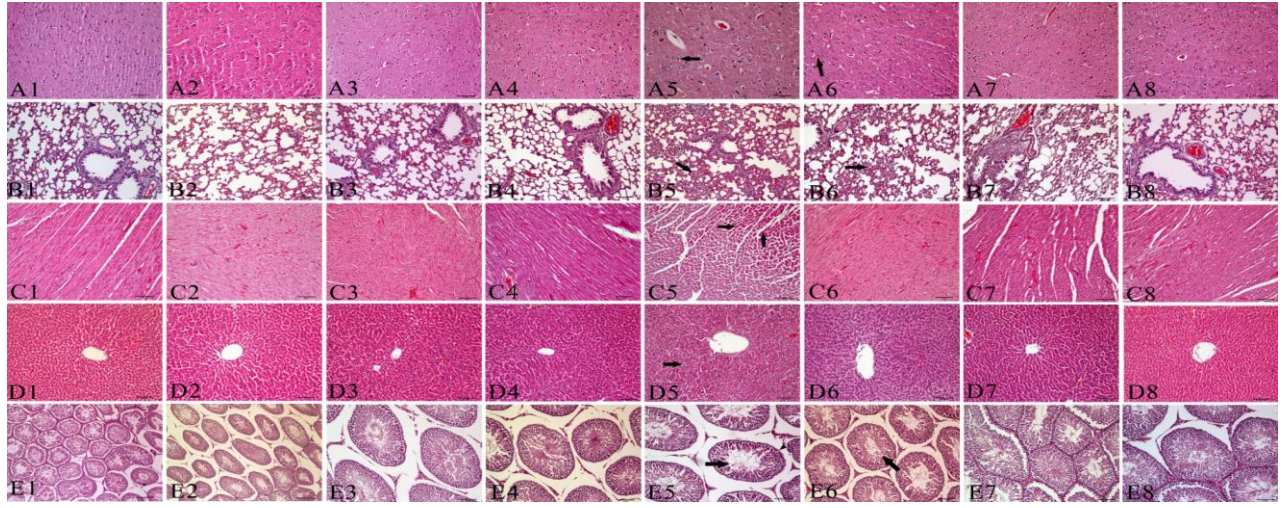
Table 4. Erkek ratlarda 100 mg/kg dozunda gentamisin ve 100 mg/kg gentamisin + 5 (B₅), 10 (B₁₀) ve 20 (B₂₀) mg/kg miktarlarında uygulanan borun (B) doku CAT düzeyleri üzerine etkisi

Table 4. Effects of gentamicin at dose 100 mg/kg and 100 mg/kg gentamicin + boron (B) at doses 5 (B₅), 10 (B₁₀) and 20 (B₂₀) mg/kg on catalase activities of male rats tissues

Gruplar	Karaciğer (nmoldk ⁻¹ / μ g protein)	Kalp (nmoldk ⁻¹ / μ g protein)	Beyin (nmoldk ⁻¹ / μ g protein)	Akciğer (nmoldk ⁻¹ / μ g protein)	Testis (nmoldk ⁻¹ / μ g protein)
Kontrol	4,96 \pm 0,48 ^a	5,05 \pm 1,08	4,14 \pm 0,54	1,09 \pm 0,20	3,71 \pm 0,63
Gentamisin	2,54 \pm 0,49 ^e	4,73 \pm 0,54	4,15 \pm 0,13	0,92 \pm 0,17	3,19 \pm 0,12
B-5	3,77 \pm 0,72 ^{bc}	4,36 \pm 0,70	4,38 \pm 0,15	0,85 \pm 0,19	3,51 \pm 0,19
B-10	4,28 \pm 0,88 ^{ab}	4,80 \pm 0,56	4,40 \pm 0,16	0,85 \pm 0,15	3,46 \pm 0,17
B-20	4,33 \pm 0,75 ^{ab}	4,80 \pm 0,56	4,87 \pm 0,18	0,88 \pm 0,17	3,76 \pm 0,11
B-5+Gentamisin	3,12 \pm 0,63 ^{cde}	4,93 \pm 0,52	4,36 \pm 0,15	0,83 \pm 0,19	3,25 \pm 0,17
B-10+Gentamisin	2,90 \pm 0,96 ^{de}	4,97 \pm 0,45	4,17 \pm 0,12	0,82 \pm 0,17	3,28 \pm 0,14
B-20+Gentamisin	3,41 \pm 0,84 ^{cd}	4,16 \pm 0,47	4,35 \pm 0,11	0,83 \pm 0,13	3,31 \pm 0,17

Ortalama \pm standard sapma; n=7

^{a,b,c,d,e} Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)



Şekil 1. Erkek ratların beyin (A), akciğer (B), kalp (C), karaciğer (D) ve testis (E) dokularında gentamisind ile oluşturulan hasar üzerine borun etkisi. Tüm şekiller H&E ile boyanmıştır. Orijinal büyütme oranı olarak 20x ve 100 µm kullanılmıştır. Oklar sırasıyla beyinde neuronal dejenerasyon ile fokal gliozis (Şekil 1A5), akciğerlerde interalveolar septal dokuda kalınlaşma (Şekil 1B5), kalp dokusunda hyalin dejenerasyonları ve nekrobiyotik değişiklikler (Şekil 1C5), karaciğerlerde sinüzoidal dilatasyon ve hepatositlerde nekrobiyotik değişiklikler (Şekil 1D5), ve testiste tubulus semineferus kontortus lumenlerinde spermatozoit yoğunluğunda azalma ve sertoli hücrelerinde nekrobiyotik değişiklikler (Şekil 1E5) işaret etmektedir. (1) Kontrol grubunu, (2) B-5, (3) B-10, (4) B-20, (5) Gentamicin, (6) B-5 + Gentamicin, (7) B-10 + Gentamicin ve (8) B-20 + Gentamicin uygulanan ratları göstermektedir.

Figure 1. The effect of gentamicin and gentamicin plus boron on brain (A), lung (B), heart (C), liver (D), and testis (E) tissues in male rats. All figures were stained with H&E. The original magnification was x20 and the scale bars represent 100 µm. Arrows indicate neurophagia and focal gliosis in the brain (Fig 1A5), thickening of interalveolar septal tissue in lung (Fig 1B5), hyaline degenerations and necrosis in the heart (Fig 1C5), sinusoidal dilatations and necrosis in hepatocyte of liver (Fig 1D3), and reduced spermatogenic density and necrosis in sertoli cell of testis (Fig 1E5), respectively. (1) Control group, (2) B-5, (3) B-10, (4) B-20, (5) Gentamicin, (6) B-5 + Gentamicin, (7) B-10 + Gentamicin ve (8) B-20 + Gentamicin.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Çeşitli enfeksiyonlara karşı sıkça ve yaygın kullanıma sahip olan ve aminoglikozid antibiyotik grubunda yer alan gentamicin nefrotoksisite ve ototoksisiteye yol açtığından dolayı uzun dönem kullanımını sınırlı kalmaktadır (Kayaalp, 1990). Gentamicinin bu toksik etkilerinin azaltılması için çeşitli stratejiler, mekanizmalar ya da ajanların deneysel çalışmalarda kullanılmasıyla koruyucu araştırmalar yapılmakta, fakat bunların sağlık alanında pratik uygulamalara geçişi sınırlı olmaktadır (Khan ve ark., 2009). Özellikle olumsuz yan etkileri bilinen etkili ilaçların kullanımının artırılması amacıyla çeşitli ajanların ya da maddelerin bu ilaçlarla birlikte kullanılmasının gerekliliğini beraberinde getirmektedir. Bu amaçla da en çok doğal antioksidan maddelerin kullanımı tercih edilmektedir. Gentamicin nefrotoksisitesinin oluşum mekanizmalarından biri de reaktif oksijen türleri oluşturmalarıdır (Cuzzocrea ve ark., 2002; Quirós ve ark., 2011). İlacın kullanımına bağlı olarak oluşan bu olumsuz etkiyi azaltmak içinde antioksidanların kullanımı söz konusu olmaktadır. Bor madeninin ülkemizde yüksek miktarda bulunması ve yapılan birçok araştırmada canlıların gelişiminde rol almasının yanı sıra farmakolojik olarak da etkilerinin belirlenmesi ülke ekonomisi ve

kullanım alanının artırılması bakımından önem teşkil etmektedir. Yapılan bu çalışmada farmakolojik etkinliğe sahip B'un gentamicin toksistesine karşı olası koruyucu etkisi araştırılmıştır. Noorani ve ark. (2011) yaptıkları bir çalışmada *Caesalpinia bonduc* (L.) bitkisinin metanolik ekstraktının gentamicin ile indüklenen toksikasyonda olası koruyucu etkisini ratlarda araştırmışlardır. Çalışmada, 80 mg/kg gentamicinin günde tek sefer ve 7 gün boyunca uygulaması sonucunda alanin aminotransferaz (ALT), aspartate aminotransferaz (AST), alkaline phosphataz (ALP), trigliserid (TG), bilirubin ve total protein değerlerinin gentamicin verilen gruplarda yüksek olduğu ve karaciğer hasarının gözlemlendiği belirtilmiştir. Buna karşın bitki ekstraktının 250 ve 500 mg/kg dozlarında verilmesi ile gentamicin uygulaması sonucunda, ekstraktların gentamicinin neden olduğu karaciğer hasarını azalttığını vurgulamışlardır. *Sonchus asper* bitkisinin metanolik ekstraktının antioksidan ve koruyucu etkisinin gentamicinle indüklenen ratlarda araştırıldığı bir çalışmada, 100 mg/kg gentamicinin 10 gün boyunca intraperitoneal uygulanan ratlarda serum AST, ALT, ALP, LDH, γ -GT, total kolesterol, trigliserid, total protein, albumin, kreatinin, BUN, total ve direkt bilirubin değerlerinin arttığı belirlenmiştir. Bunun yanısıra lipid peroksidasyon

ve DNA hasarının arttığı, buna karşın GSH ve antioksidan enzimlerin aktivitelerinin (CAT, SOD) azaldığı belirtilmiştir. Bitki ekstraktının 100 ve 200 mg/kg verilmesinin görülen bu bozukluklarının azalmasına neden olduğu vurgulanmıştır (Khan ve ark., 2011). Benzer şekilde, yapılan bu çalışmada da 100 mg/kg gentamisin ratların karaciğerinde MDA düzeylerini arttırdığı, buna karşın GSH ve antioksidan enzimlerin (SOD ve CAT) aktivitelerini azalttığı belirlenmiştir. Buna karşın B uygulamasının artan dozlarına bağlı olarak gentamisin neden olduğu doku hasarını azalttığı konusunda B'un antioksidan etkisinden kaynaklı olduğu söylenebilir (Ince ve Arslan-Acaroz, 2015). Khan ve ark. (2011) tarafından 7 gün boyunca gentamisin (100 mg/kg) uygulanan ratların karaciğerlerinde şiddetli derecede lökosit infiltrasyonu ve hepatositlerde hidropik dejenerasyonların olduğu belirtilmiştir. Benzer şekilde, Noorani ve ark. (2011) 7 gün boyunca gentamisin (100 mg/kg) uygulanan ratların karaciğerlerinde nekroz, sinüzoidlerde genişleme ve lökosit infiltrasyonları, damarlarında dilatasyon ve konjesyon ile birlikte hemorajinin görüldüğünü belirtmişlerdir. Yapılan bu çalışmada, beyin dokularında nöronal dejenerasyon ile fokal gliozis, akciğerlerinde interalveolar septal dokuda kalınlaşma, kalp kası hücrelerinde hyalin dejenerasyonu alanları ve nekrobiyotik değişiklikler, karaciğerlerinde sinüzoidal dilatasyon ve hepatositlerde nekrobiyotik değişiklikler, testis dokularında tubulus semineferus kontortus lumenlerinde spermatozoit yoğunluğunda azalma ve sertoli hücrelerinde nekrobiyotik değişiklikler gözlemlendi. Sonuç olarak çalışmada, borun ratlarda gentamisin ile indüklenen doku hasarına karşı koruyucu etkiye sahip olduğu belirlendi. B hem LPO'yu engelleyerek hem de antioksidan savunma sistemi aktivitesini artırarak koruyucu etkilerini meydana getirmiştir. Aynı zamanda, B gentamisin toksisitesine karşı hücreleri korumakta ve oluşan doku hasarına karşın rejenerasyonu artırmaktadır.

KAYNAKLAR

Aebi H. Catalase in vitro, in: U. Bergmeyer (Ed.), Methods of enzymatic analysis. Academic Press, New York and London. 1974; 673-677.

Atessahin A, Karahan I, Yilmaz S, Çeribaşı AO, Princci I. The effect of manganese chloride on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. Pharmacological Research. 2003; 48: 637-642.

Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. Journal of Laboratory and Clinical Medicine. 1993; 61: 882-888.

Bilgiç M, Dayık M. Borun özellikleri ve tekstil endüstrisinde kullanımıyla sağladığı avantajlar. Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi. 2013; 7: 27-37.

Bourgeois AC, Scott ME, Sabally K, Koski KG. Low dietary boron reduces parasite (nematoda) survival and alters cytokine profiles but the infection modifies liver minerals in mice. Journal of Nutrition. 2007; 137: 2080-2086.

Briggs GG, Ambrose P, Nageotte MP. Gentamicin dosing in postpartum women with endometritis. American Journal of Obstetrics and Gynecology. 1989; 160: 309-13.

Cuzzocrea S, Mazzon E, Dugo L, Serraino I, Di Paola R, Britti D, De Sarro A, Pierpaoli S, Caputi A, Masini E, Salvemini DA. Role for superoxide in gentamicin-mediated nephropathy in rats. European Journal of Pharmacology. 2002; 450: 67-76.

Dökmeci İ, Akçasu A, Banoğlu N, Berkarda Ş. Farmakoloji. İlaç Uygulamalarında Temel Kavramlar. Editör: Dökmeci İ. Nobel Tıp Kitabevleri. 1992; 705-785.

Duff P, Jorgensen JH, Gibbs RS, Blanco JD, Alexander G, Castaneda YS. Serum gentamicin levels in patients with post-cesarean endomyometritis. Obstetric Gynecology. 1983; 61: 723-727.

Hancock RE, Raffle VJ, Nicas TI. Involvement of the outer membrane in gentamicin and streptomycin uptake and killing in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrobial Agents Chemotherapy. 1981; 19: 777-785.

Ince S., Arslan-Acaroz D. An Update on Health Effects of Metalloid Trace Element: Boron. Aperi Journal of Drug Designing and Pharmacology. 2015; 2:1.

Ince S, Keles H, Erdogan M, Hazman O, Kucukkurt I. Protective effect of boric acid against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice. Drug and chemical toxicology. 2012; 35: 285-292.

Ince S, Kucukkurt I, Cigerci IH, Fidan AF, Eryavuz A. The effects of dietary boric acid and borax supplementation on lipid peroxidation, antioxidant activity, and DNA damage in rats. Journal of Trace Element and Medicinal Biology. 2010; 24: 161-164.

Ince S, Kucukkurt I, Demirel HH, Acaroz DA, Akbel E, Cigerci IH. Protective effects of boron on cyclophosphamide induced lipid peroxidation and genotoxicity in rats. Chemosphere. 2014; 108: 197-204.

Karahan I, Atessahin A, Yilmaz S, Ceribaşı AO, Sakin F. Protective effect of lycopene on gentamicin-induced oxidative stress and

- nephrotoxicity in rats. *Toxicology*. 2005; 215: 198-204.
- Kayaalp SO.** Rasyonel Tedavi Yönünden Tibbi Farmakoloji (Cilt 3). Ankara: Feryal Matbaası. 1990.
- Khan MR, Badar I, Siddiquah A.** Prevention of hepatorenal toxicity with *Sonchus asper* in gentamicin treated rats. *BMC complementary and alternative medicine*. 2011; 11(1): 113.
- Khan SA, Priyamvada S, Farooq N, Khan S, Khan MW, Yusufi AN.** Protective effect of green tea extract on gentamicin-induced nephrotoxicity and oxidative damage in rat kidney. *Pharmacological Research*. 2009; 59: 254-262.
- Kucukkurt I, Akbel E, Karabag F, Ince S.** The effects of dietary boron compounds in supplemented diet on hormonal activity and some biochemical parameters in rats. *Toxicology and industrial health*. 2015; 31: 255-260.
- Kucukkurt I, Ince S, Fidan AF, Ozdemir A.** The effects of dietary supplementation of different amount of *Yucca schidigera* powder (Sarsaponin 30®) on blood and tissue antioxidant defense systems and lipid peroxidation in rats. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 2008; 7: 1413-1417.
- Lode H, Kemmerich B, Koeppe P.** Comparative clinical pharmacology of gentamicin, sisomicin, and tobramycin. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 1975; 8: 396-401.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ.** Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*. 1951; 193: 265-275.
- Luo QH, Chen ML, Sun FJ, Chen ZL, Li MY, Zeng W, Gong L, Cheng AC, Peng X, Fang J, Tang L, Geng Y.** KIM-1 and NGAL as biomarkers of nephrotoxicity induced by gentamicin in rats. *Molecular Cell Biochemistry*. 2014; 397: 53-60.
- McCoy H, Kenney MA, Montgomery C, Irwin A, Williams L, Orrell R.** Relation of boron to the composition and mechanical properties of bone. *Environmental Health Perspective*. 1994; 102: 49-53.
- Nakajima T, Hishida A, Kato A.** Mechanisms for protective effects of free radical scavengers on gentamicin-mediated nephropathy in rats. *American Journal of Physiology*. 1994; 266: 425-431.
- Nielsen FH, Hunt CD, Mullen LM, Hunt JR.** Effect of dietary boron on mineral, estrogen, and testosterone metabolism in postmenopausal women. *Faseb Journal*. 1987; 1: 394-397.
- Noorani AA, Gupta K, Bhadada K, Kale MK.** Protective effect of methanolic leaf extract of *Caesalpinia bonduc* (L.) on gentamicin-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats. *Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics*. 2011; 10: 21-25.
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K.** Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*. 1979; 95: 351-358.
- Quirós Y, Vicente-Vicente L, Morales AI, Lopez-Novoa JM, Lopez-Hernandez FJ.** An integrative overview on the mechanisms underlying the renal tubular cytotoxicity of gentamicin. *Toxicological Sciences*. 2011; 119: 245-256.
- Samman S, Naghii MR, Lyons Wall PM, Verus AP.** The nutritional and metabolic effects of boron in humans and animals. *Biological Trace Element Research*. 1998; 66: 227-235.
- Sun Y, Oberley LW, Li Y.** A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*. 1988; 34: 497-500.
- Şanlı Y, Kaya S.** Veteriner Farmakoloji ve İlaçla Sağlık Seçenekleri. Medisan Yayınevi, Ankara. 1994; 571-650.
- Şener S.** Veteriner Klinik Farmakoloji ve Formüller. Pethask Veteriner Hekimliği Yayınları. 1990; 83-91.
- Turkez H, Geyikoğlu F, Tatar A, Keleş S, Özkanç A.** Effects of some boron compounds on peripheral human blood. *Zeitschrift für Naturforschung*. 2007; 62: 889-896.

Amoksisilin Klavulanik Asit, Amoksisilin Klavulanik Asit+Vitamin Uygulamasının Ratların Böbrek ve Karaciğer Dokularındaki Malondialdehit ve Antioksidan Düzeylerine Etkisi[#]

Emine ALTIN, Ali ERTEKİN*

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, SAMSUN

*Corresponding author e-mail: aertekin@omu.edu.tr

[#] This article summarized from the same name master thesis. This research was supported by Ondokuz Mayıs University Project Management Office with project VET.1904.15.015

ÖZ

Bu çalışmayla amoksisilin klavulanik asitin (AKA) ve vitaminlerin, sıçanların karaciğer ve böbrek dokusunda antioksidanlar ve oksidatif stres üzerine etkilerini incelemek amaçlandı. 49 Wistar–albino erkek sıçan; 1. grup: AKA, 2. grup: AKA+vitamin C, 3. grup: AKA+vitamin E, 4. grup: AKA+vitamin C+vitamin E, 5. grup: vitamin C, 6. grup: vitamin E, 7. grup: kontrol grubu olarak ayrıldı. Çalışma sonunda karaciğer ve böbrek dokusunda malondialdehit (MDA), redükte glutasyon (GSH), katalaz aktivitesi (CAT), vitamin C, total protein, plazma ALT, AST ve GGT miktarları ölçüldü. 1. grupta ALT önemli düzeyde arttı ($p<0.001$). Böbrek dokusu MDA sadece 1. grupta artış gösterdi ($p<0.05$). Böbrek dokusu GSH düzeylerinde 2. ve 4. grupta önemli miktarda azalma saptanmıştır ($p<0.05$). Böbrek dokusu CAT aktivitesi 1. grupta önemli bir artış ($p<0.01$), 4. grupta ise azalma gösterdi ($p<0.01$). 6. grupta CAT aktivitesinde artış gözlemlendi ($p<0.05$). Böbrek dokusu vitamin C 1. grupta önemli derecede düşük bulundu ($p<0.001$). Karaciğer dokusu MDA grupların tamamında artış göstermiştir (1., 3. ve 5. grup, $p<0.05$; 2., 4. ve 6. grup, $p<0.01$). GSH sadece 4. grupta azaldı ($p<0.01$). CAT aktiviteleri diğer bütün gruplarda önemli düzeyde azaldı (1. 2. grupta ($p<0.01$), 6. grupta ($p<0.05$). Vitamin C 1. ($p<0.001$) ve 2. grupta ($p<0.01$) önemli derecede azalmıştır. Total protein karaciğer dokusunda sadece 4. grupta ($p<0.001$) azalmıştır. Parametrelerdeki değişimler karaciğer ve böbrek hücrelerinde oksidatif hasardan kaynaklı dejenerasyonların olabileceğini göstermektedir. Sonuç olarak, oksidatif hasarlara karşı antibiyotiğe ek olarak antioksidanların da kullanılmasının faydalı olabileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelime: Amoksisilin klavulanik asit, Antioksidanlar, Malondialdehit, Sıçan, Vitamin.

The Effects of Amoxicillin Clavulanic Acid, Amoxicillin Clavulanic Acid + Vitamin Administration on Malondialdehyde and Antioxidant Levels in Kidney and Liver Tissues of the Rats

ABSTRACT

It is aimed to investigate the effects of Amoxicillin Clavulanic Acid (AKA) and vitamins on antioxidants and oxidative stress in liver and kidney tissues of the rats. 49 Wistar-albino male rats were divided into seven groups. We applied; group1: AKA, group2: AKA+vitamin C, group3: AKA+vitamin E, group4: AKA+vitamin C+vitamin E, group5: vitamin C, group6: vitamin E and group7: as a control group. At the end of the study Malondialdehyde(MDA), reduced glutathione(GSH), catalase activities(CAT), vitaminC, total protein levels in liver and kidney tissues of the rats were analyzed, and plasma ALT, AST and GGT levels were measured. The ALT increased significantly in Group1($p<0.001$). Renal tissue MDA increased in only group1($p<0.05$). A significant decrease was determined in GSH levels in group2 and 4($p<0,05$). CAT showed a significant increase in group1($p<0.01$) and a decrease in group4($p<0.05$). Group6 showed an increase in CAT activity($p<0.01$). Renal tissue vitaminC was significantly lower in group1($p<0.001$). Liver tissue MDA were increased in all groups(1., 3. and 5. groups $p<0.05$; 2., 4. and 6. groups $p<0.01$). GSH decreased in only group4($p<0.01$). CAT activities decreased significantly in all other groups (group1 and 2; $p<0.01$, group6; $p<0.05$). VitaminC decreased in group1($p<0.001$) and group2($p<0.01$) significantly. Total protein in liver tissue decreased only in group4($p<0.001$). Changes in parameters suggest that there may be oxidative damage-induced degenerations in liver and kidney cells. As a result, it has come to the conclusion that it may be useful to use antioxidants in addition to antibiotics against oxidative damage.

Key Words: Amoxicillin clavulanic acid, Antioxidants, Malondialdehyde, Rat, Vitamin.

To cite this article: Altin E. Ertekin A. Amoksisilin Klavulanik Asit, Amoksisilin Klavulanik Asit+Vitamin Uygulamasının Ratların Böbrek ve Karaciğer Dokularındaki Malondialdehit ve Antioksidan Düzeylerine Etkisi. Kocatepe Vet J. (2017) 10(3): 180-186.

GİRİŞ

Amoksisilin, mikroorganizmaların neden olduğu bakteriyel enfeksiyonlara karşı kullanılan orta spektrumlu, beta-laktam antibiyotiktir (Ünal ve ark. 2008). Amoksisilin, *Escherichia coli*, *Enterokok*, *Salmonella* ve *Pasteurella multocida* türleri üzerinde güçlü; *Shigella* ve *Enterobakter* türleri üzerinde ise daha zayıf etki gösterir (Kaya 2007). Ayrıca *Listeria monocytogenes*, *Proteus mirabilis*, *Haemophilus influenzae* ve *Moraxella catarrhalis* üzerine de etkili bir antibiyotiktir (Trevor ve ark. 2013).

Streptomyces clavuligerus tarafından sentezlenen klavulanik asit, anlamlı bir Antibiyotik etkinliğe sahip değildir (Salvo ve ark. 2007). Amoksisilin tek başına iken gram negatif bakteriler tarafından salgılanan beta laktamazlar aracılığıyla yıkıma uğradığı için, bu durumu önlemek amacıyla bir beta laktamaz inhibitörü olan klavulanik asit ile birlikte kullanılır (Brunton ve ark. 2009).

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde bir ya da daha fazla çiftleşmemiş elektron bulduran yapılardır. Serbest radikaller fizyolojik veya patolojik reaksiyonlar sırasında moleküllerin yapısını bozmaktadırlar (Durmuş ve Ünsaldı, 2005). Hücredeki çoğu oksijen molekülü, hücresel enzimlerin aktiviteleri sonucu suya dönüştürülür. Bununla birlikte; bu enzimlerin bazıları oksijen molekülüne elektron sızdırıp serbest radikal oluşumuna yol açarlar (Shinde ve ark. 2012).

Makrofajlar ve nötrofiller fagositozla yutulabilecek bakterileri öldürebilmek için radikal üretirler (Sushil ve ark. 1989). Belirli hücre kompartmanlarında üretilen hidrojen peroksit, önemli birçok biyolojik sürecin düzenlenmesinde ikincil haberci olarak görev yapmaktadır (Valko ve ark. 2016).

Serbest radikaller oksidasyona karşı son derece duyarlı olan fosfolipid-doymamış yağ asiti artıkları ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyonu ve peroksidasyon ürünleri oluşur. Peroksidasyon sonucu malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksi-2-nonenal oluşur. MDA sıçanlarda kanserojen, bakteri ve memeli hücrelerinde mutajenik etki gösterir (Valko ve ark. 2007).

Aerobik canlılar organik moleküllerden enerji eldesi için moleküler oksijeni kullanırlar. Hücrenin fizyolojik ve metabolik süreçlerinden kaynaklanan reaktif oksijen ürünlerinin zararlı etkilerine maruz kalan bu organizmalarda, reaktif oksijen türlerini bertaraf etmek için antioksidan savunma sistemi olarak bilinen koruyucu bir sistem gelişmiştir. Bu sistemin görevi oksijenin tam olarak indirgenmemiş türlerinin oluşturduğu hasara karşı hücreyi korumaktır. Normal şartlarda reaktif oksijen türleri ile antioksidan savunma sistemi arasında bir denge bulunmaktadır (Gönenç 1997)

Oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine bozulması oksidatif stres olarak tanımlanır. Organizmanın antioksidan savunma

sisteminin yetersiz kaldığı durumlarda artan serbest radikal düzeyleri hücrelerde hasar ve fonksiyon bozukluklarına neden olur (Tabakoğlu ve Durgut, 2013). Bu hasarların yaşlanma, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar, immün sistemde zayıflama, otoimmün bozukluklar, kanser, katarakt, artrit gibi çeşitli hastalıklar ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Shinde ve ark. 2012).

MATERYAL VE METOT

Yapılan çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deneysel Hayvanları Araştırma Merkezi'nde yürütülmüştür, OMÜ Hayvan Deneysel Yücel Etik Kurulu tarafından 14.07.2015 tarihli 2015/50 sayılı karar ile onaylanmıştır.

Materyal

Bu çalışmanın materyalini 3-4 aylık, 250-300 g canlı ağırlıkta 49 Wistar-albino ırkı erkek sıçan oluşturmuştur. Her grupta yedi rat olacak şekilde yedi gruba ayrılan ratlar tel kafeslerde, 12 saat gündüz 12 saat gece periyotlarında, $21\pm 3^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta ve $\%50\pm 5$ nemde tutulmuşlardır. Çalışma süresi yedi gün olarak belirlenmiştir. Çalışma süresince ratların önünde sürekli yem ve içme suyu bulundurulmuştur.

Sıçanların gruplara bölünmesi;

1. Grup (Amoksisilin klavulanik asit uygulama grubu): Enjeksiyonluk süspansiyondan (35 mg klavulanik asit+140 mg amoksisilin trihidrat/ml, Noroclav-Etkin İlaç San., Türkiye) 150 mg/kg canlı ağırlık/gün olacak şekilde intramusküler (i.m.) uygulama yapılmıştır.

2. Grup (Amoksisilin klavulanik asit+vitamin C uygulama grubu): Enjeksiyonluk süspansiyondan 150 mg/kg canlı ağırlık/gün olarak i.m., ilave olarak ml'sinde 100 mg askorbik asit içeren flakondan (Redox-C, Bayer İlaç, Bayer Türkiye) 200 mg/kg canlı ağırlık/gün olarak intraperitoneal (i.p.) uygulama yapılmıştır.

3. Grup (Amoksisilin klavulanik asit+vitamin E uygulama grubu): Enjeksiyonluk süspansiyondan 150 mg/kg canlı ağırlık/gün olarak i.m., ilave olarak ml'sinde 150 mg alfa tokoferol içeren flakondan (Evigen- Laurus İlaç, Türkiye) 150 mg/kg canlı ağırlık/gün olarak i.m. uygulanmıştır.

4. Grup (Amoksisilin klavulanik asit+vitamin C+vitamin E uygulama grubu): Enjeksiyonluk süspansiyondan 150 mg/kg canlı ağırlık/gün olarak i.m., ml'sinde 100 mg askorbik asit içeren flakondan 200 mg/kg canlı ağırlık/gün i.p. olarak ve ml'sinde 150 mg alfa tokoferol içeren flakondan 150 mg/kg canlı ağırlık/gün olacak şekilde i.m. olarak uygulanmıştır.

5. Grup (Vitamin C grubu): ml'sinde 100 mg askorbik asit içeren flakondan 200 mg/kg canlı

ağırlık/gün olacak şekilde i.p. olarak uygulama yapılmıştır.

6. Grup (Vitamin E grubu): ml'sinde 150 mg alfa tokoferol içeren flakondan 150 mg/kg canlı ağırlık/gün olacak şekilde i.m. olarak uygulama yapılmıştır.

7. Grup (Kontrol grubu): 0.1ml/gün olacak şekilde serum fizyolojik i.p. olarak uygulanmıştır.

Yedi günün sonunda, etik kurallara uygun olarak [%2'lik Basilazin (2-5 mg/kg canlı ağırlık) ve %10'luk Ketazol (0.8-1.3 ml/kg canlı ağırlık)] ratlar uyutuldu. Kan örnekleri alındı. Karaciğer ve böbrek dokusu çıkartıldı. Dokular soğuk serum fizyolojik ile yıkandı, formol çözeltisi içine konuldu.

Alınan kanlar aynı gün 3000rpm/15 dk. santrifüj edildi. Plazmaları çıkarılan örneklerin, otoanalizörde ALT, AST ve GGT enzim düzeylerine bakıldı.

Tris-HCl tamponu:

24.23 g Tris tartıldı, bir miktar distile suda çözündürüldü, hacmi distile su ile 1 L'ye tamamlandı, pH'sı 7 olacak şekilde ayarlandı.

Doku örnekleri, 1/10 oranında Tris-HCl tamponuyla sulandırıldı ve homojenize edildi. Homojenizatlar 4000 rpm/30 dk. santrifüj edildi, süpernatantlar ependorf tüplerine pipetlendi, -21°C'de derin dondurucuda muhafaza edildi.

Metot

Karaciğer ve böbrek dokuları süpernatantlarında MDA tayini Sushil ve ark. (1989)'nın metoduna göre, doku GSH tayini modifiye Ellman metodu (Yüzüak ve ark. 2014) ile, doku C vitamini tayini Omaye ve ark. (1979)'nin metoduna göre, doku katalaz enzimi aktivitesi Aebi (1984)'nin metoduna göre, total protein miktarı biüret metodu (Tiftik 1996) ile ve plazma ALT, AST ve GGT enzim aktivitele Audit Diagnostics ticari kitlerle çalışıldı.

Histolojik Metotlar

Karaciğer ve böbrek dokuları %10'luk formaldehid solüsyonunda tespit edildi, rutin histolojik doku takibi işlemlerinden geçirilerek Crossman (1937)'un üçlü boyama tekniği ile boyandı. Elde edilen preparatlar Nikon E-600 araştırma mikroskobu altında ve Nikondigital-sight görüntüleme sistemi ile fotoğraflandı.

Tablo 1. Kontrol ve Çalışma Gruplarına Ait Plazma ALT, AST ve GGT Düzeyleri

Table 1. Plasma ALT, AST and GGT Levels of Control and Working Groups

Gruplar	Parametreler (U/L)			
	n	ALT	AST	GGT
AKA	7	172.571 ± 21.306 ^a	124.142 ± 15.678	3.000 ± 0.816
AKA + Vit. C	7	108.285 ± 34.335	118.000 ± 13.650	2.928 ± 0.590
AKA + Vit. E	7	48.571 ± 8.100	112.000 ± 25.468	2.332 ± 0.942
AKA + Vit. C + Vit. E	7	51.571 ± 17.539	123.428 ± 22.721	2.642 ± 0.626
Vitamin C	7	68.428 ± 27.861	115.142 ± 19.878	2.428 ± 0.786
Vitamin E	7	69.714 ± 30.120	125.571 ± 22.633	3.214 ± 0.466
Kontrol	7	66.857 ± 26.585	117.000 ± 21.393	2.571 ± 0.786

a: p<0.001, A.K.A: Amoksisilin Klavulanik Asit, Vit C: Vitamin C, Vit. E: Vitamin E., Veriler ortalama±std. sapma olarak hesaplandı.

İstatistiksel Analizler

Veriler SPSS 21 v. paket programı Paired- Sample T Testi ile istatistiksel olarak yorumlandı.

BULGULAR

Plazma ALT, AST ve GGT düzeyleri Tablo 1'de, böbrek dokusu MDA, GSH, CAT aktivitesi, vitamin C ve total protein düzeyleri Tablo 2'de, karaciğer dokusu MDA, GSH, CAT aktivitesi, vitamin C ve total protein düzeyleri Tablo 3'te sunulmuştur.

Histopatolojik Bulgular

Böbrek: Organın bağ dokudan oluşan bir kapsül ile çevrili olduğu gözlenmiştir. Korteks ve medulla bölgeleri incelendiğinde gruplar arasında çok belirgin farklılıklara rastlanmamıştır. Ancak 2., 4. ve 6. gruplardaki sıçanların böbrek tübüllerinin lumenlerinde hafif genişlemeler ve tübül epitellerinde hafif dejenerasyonların olduğu belirlenmiştir.

Karaciğer: Karaciğerin fibröz bir kapsülle sarılı olduğu gözlenmiştir. Vena interlobularis, arteria hepatica ve duktus biliferi'den oluşan portal alanlar net olarak görülmektedir. Karaciğer epitel hücrelerinin oluşturduğu remark kordon yapıları ve bol miktarda sinüzoidler dokuda hakimdir. Gruplar arasında histolojik olarak çok belirgin farklılıklar gözlenirse de 1., 2. ve 6. gruptaki sıçanların karaciğer epitel hücrelerinde dejenerasyon ve piknotik görüntüler tespit edilmiştir.

Amoksisilin klavulanik asit+vitamin C uygulaması yapılan 2. grup, amoksisilin klavulanik asit vitamin C+vitamin E uygulanan 4. grup, vitamin E uygulaması yapılan 6. grup ve kontrol grubu böbrek dokularının histopatolojik görünümü Şekil 1'de, amoksisilin klavulanik asit uygulanan 1. grup, amoksisilin klavulanik asit vitamin C uygulanan 2. grup, vitamin E uygulaması yapılan 6. grup ve kontrol grubu karaciğer dokularının histopatolojik görünümü Şekil 2'de sunulmuştur.

Tablo 2. Böbrek Dokusu Kontrol ve Çalışma Gruplarına Ait Malondialdehit, Glutasyon, Katalaz, Vitamin C ve Total Protein Düzeyleri

Table 2. Malondialdehyde, Glutathione, Catalase, Vitamin C and Total Protein Levels of the Kidney Tissue Control and Working Groups

Gruplar	Böbrek Dokusu – Parametreler					
	n	MDA ($\mu\text{mol/g}$ doku)	GSH ($\mu\text{mol/g}$ doku)	CAT (k/g doku)	Vitamin C (mg/100 g doku)	Total Protein (%g)
AKA	7	94.858 \pm 14.938 ^c	0.412 \pm 0.099	2.760 \pm 0.300 ^b	702.570 \pm 136.52 ^a	0.203 \pm 0.027
AKA +Vit. C	7	69.007 \pm 19.263	0.405 \pm 0.055 ^c	2.118 \pm 0.797	1144 \pm 168.81	0.222 \pm 0.064
AKA +Vit. E	7	74.740 \pm 14.230	0.504 \pm 0.115	1.960 \pm 0.440	1210.42 \pm 182.72	0.211 \pm 0.046
AKA +Vit.C +Vit. E	7	67.261 \pm 15.865	0.411 \pm 0.919 ^c	1.670 \pm 0.204 ^b	1114.85 \pm 168.44	0.221 \pm 0.084
Vitamin C	7	78.524 \pm 15.841	0.502 \pm 0.099	2.121 \pm 0.653	1250 \pm 181.23	0.210 \pm 0.053
Vitamin E	7	81.390 \pm 7.773	0.462 \pm 0.069	2.348 \pm 0.204 ^c	1157.71 \pm 152.42	0.188 \pm 0.067
Kontrol	7	73.831 \pm 13.367	0.521 \pm 0.114	2.157 \pm 0.349	1179.028 \pm 133.17	0.205 \pm 0.031

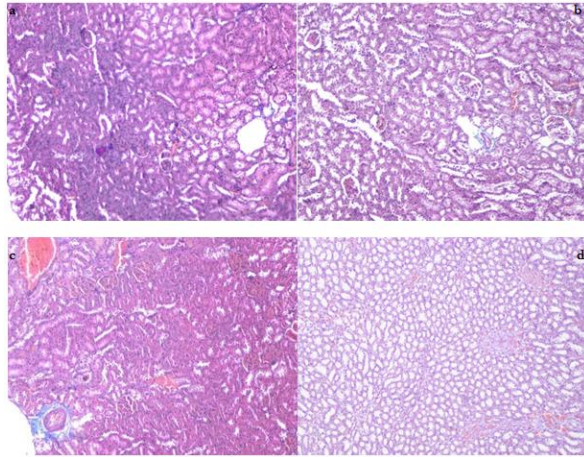
a: p<0.001, b: p<0.01, c: p<0.05 Veriler ortalama \pm std. sapma olarak hesaplandı.

Tablo 3. Karaciğer Dokusu Kontrol ve Çalışma Gruplarına Ait Malondialdehit, Glutasyon, Katalaz, Vitamin C ve Total Protein Düzeyleri

Table 3. Malondialdehyde, Glutathione, Catalase, Vitamin C and Total Protein Levels of Liver Tissue Control and Working Groups

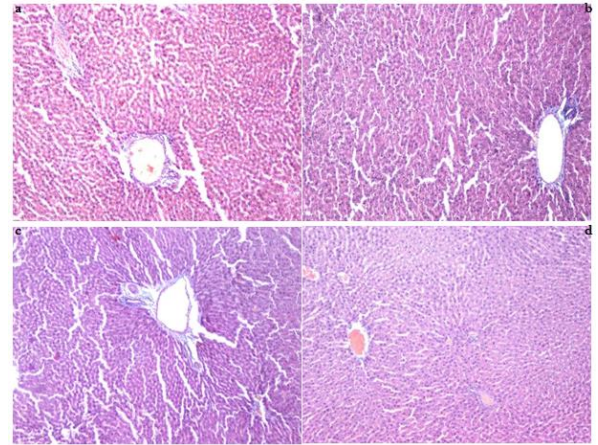
Gruplar	Karaciğer Dokusu – Parametreler					
	n	MDA ($\mu\text{mol/g}$ doku)	GSH ($\mu\text{mol/g}$ doku)	CAT (k/g doku)	Vitamin C (mg/100 g doku)	Total Protein (%g)
AKA	7	34.452 \pm 9.927 ^c	0.271 \pm 0.027	1.198 \pm 0.301 ^b	439.28 \pm 95.77 ^a	0.317 \pm 0.057
AKA + Vit. C	7	33.305 \pm 6.177 ^b	0.245 \pm 0.043	1.468 \pm 0.906 ^b	565.14 \pm 129.82 ^b	0.322 \pm 0.096
AKA.+ Vit. E	7	33.122 \pm 8.570 ^c	0.222 \pm 0.049	2.700 \pm 1.057	792.57 \pm 160.07	0.290 \pm 0.051
AKA +VitC +Vit. E	7	31.302 \pm 3.915 ^b	0.177 \pm 0.047 ^b	3.388 \pm 1.186	1007.42 \pm 196.26	0.247 \pm 0.059 ^a
Vitamin C	7	30.867 \pm 5.726 ^c	0.211 \pm 0.040	3.220 \pm 1.143	957.71 \pm 144.11	0.271 \pm 0.026
Vitamin E	7	33.122 \pm 5.922 ^b	0.221 \pm 0.047	1.804 \pm 0.777 ^c	918.00 \pm 131.27	0.328 \pm 0.077
Kontrol	7	23.130 \pm 6.473	0.252 \pm 0.041	3.641 \pm 1.474	864.57 \pm 174.78	0.338 \pm 0.081

a: p<0.001, b: p<0.01, c: p<0.05 Veriler ortalama \pm std. sapma olarak hesaplandı.



Şekil 1. 2. Grup (Amoksisilin Klavulanik Asit+Vitamin C grubu) (a), 4. Grup (Amoksisilin Klavulanik Asit+Vitamin C+Vitamin E grubu) (b), 6. Grup (Vitamin E grubu) (c) ve Kontrol Grubu (d) Böbrek Dokularının Histopatolojik Görünümleri (X10) (Crossman üçlü boyama)

Figure 1. Group 2 (Amoxicillin Clavulanic Acid+Vitamin C group) (a), Group 4 (Amoxicillin Clavulanic Acid+Vitamin C+Vitamin E group) (b), Group 6 (Vitamin E group) (c) and Control Group (d) Histopathological Appearances of Kidney Tissues (X10) (Crossman triple stain)



Şekil 2. 1. Grup (Amoksisilin Klavulanik Asit grubu) (a), 2. Grup (Amoksisilin Klavulanik+Asit Vitamin C grubu) (b), 6. Grup (Vitamin E grubu) (c) ve Kontrol Grubu (d) Karaciğer Dokularının Histopatolojik Görünümleri (X10) (Crossman üçlü boyama)

Figure 2. Group 1 (Amoxicillin Clavulanic Acid Group) (a), Group 2 (Amoxicillin Clavulanic Acid+Vitamin C Group) (b), Group 6 (Vitamin E Group) (c) and Control Group (d) Histopathological Appearances of Liver Tissues (X10) (Crossman triple stain)

TARTIŞMA ve SONUÇ

Antibiyotikler, enfeksiyon tedavisinde sıklıkla kullanılan ilaçlardır. Antibiyotik kullanımına bağlı olarak görülen yan etkiler, ilaç tedavisinin kesilmesine gereksinim duyulmayacak derecede basit olabileceği gibi; yaşamı tehdit edebilecek kadar ciddi sonuçlar doğurabilir (Öncü 2013). Ateş, ishal, alerji, anafaksi, anemi, lökopeni, nörotoksisite, nefrotoksisite, kardiyotoksisite, hepatotoksisite ve kas-iskelet toksisitesi antibiyotik kullanımına bağlı olarak görülen yan etkilerden bazılarıdır (Granowitz ve Brown, 2008). Lucena ve ark. (2006)'nın yaptığı bir çalışmada genç bireylerde kısa süreli amoksisilin klavulanik asit tedavisinde sitolitik hasar görülürken, yaşlı bireylerde daha uzun süreli tedavide kolestatik/karışık tip hasar gözlemlenmiştir. Bakterisidal antibiyotikler bir yandan bakterileri öldürürken bir yandan da zararlı reaktif türlerin üretimini uyarırlar. Dwyera ve ark. (2014), antibiyotiklerin dinamik olarak hücre sel solunumu değiştirdiğini ve intraselüler hidrojen peroksidin ölümcül seviyelere ulaşmasını indüklediğini belirtmişlerdir. Kohanski ve ark. (2007)'nin yaptıkları çalışmada üç ana sınıf bakterisidal antibiyotik (aminoglikozit, kinolon, β -laktam), dahili demir-sülfür kümelerini kullanarak, Fenton tepkimesi yoluyla hidroksil radikalının letal doz üretimini uyardığını ve hücre ölümüne neden olduğunu bildirmişlerdir. Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda, bakterisidal antibiyotiklerin reaktif oksijen türleri (ROS)'ni içeren ortak bir mekanizmayla hücreleri öldürdüğüne dair fikirler ileri sürülmüştür. Keren ve ark. (2013), aerobik veya anaerobik koşullar altında çeşitli antibiyotikler ile tedavide bakterilerin sağkalımları üzerinde esasen hiçbir fark olmadığını bir ROS söndürücüsü olan tiyoürenin, düşük konsantrasyonlardaki antibiyotik varlığında hücreleri koruduğu, bu etkinin anaerobik koşullarda da kendini gösterdiğini bildirilmişlerdir. Yüksek konsantrasyondaki antibiyotik varlığında ise bu etkinin ortadan kaybolduğu gözlemlenmiştir. Peroksidasyon sonucu oluşan lipid hidroperoksitlerin yıkımı, biyolojik olarak aktif olan aldehitlerin oluşumuna yol açar. Oluşan bu aldehitler ya hücrede metabolize edilir ya da oluştuğu bölgeden daha uzak kısımlara yayılarak hücre sel hasarı çoğaltırlar (Akkuş 1995). Böbrek dokusu MDA düzeyi kontrol grubuna kıyasla, 1. grupta önemli bir artış göstermiştir ($p < 0.05$), diğer gruplardaki değişimler anlamsız bulundu. Karaciğer dokusu MDA düzeylerine bakıldığında kontrol grubuna göre diğer uygulama gruplarının tamamında istatistiksel olarak önemli miktarda artışlar saptanmıştır. Böbrek dokusu GSH düzeylerinde 2. ve 4. grupta kontrol grubuna kıyasla önemli miktarda azalma saptanmıştır ($p < 0.05$). Diğer gruplardaki azalmalar istatistiksel olarak önemsizdi. Karaciğer dokusu GSH düzeylerinde sadece 4.

grupta kontrole kıyasla anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir ($p < 0.01$). Diğer gruplarda ölçülen değerlerde istatistik olarak herhangi bir önem gözlemlenmedi. Kadkhodae ve ark. (2005)'nin deneysel gentamisin nefrotoksitesinde, gentamisin+vitamin C'nin birlikte verildiği grupta, renal doku GSH değerleri üzerinde belirgin bir etki gözlemlenmemiştir. Gentamisin+vitamin E verilen grupta, vitamin E'nin gentamisin kaynaklı GSH düzeyindeki azalmayı önlediği, gentamisin + vitamin C + vitamin E grubunda ise GSH seviyelerinin korunduğu bildirilmiştir. Olayinka ve Olukowade (2010)'nin yaptığı çalışmada sıçanlara günde iki kez yedi gün boyunca amoksisilin/klavulanik asit verilmiş, ilaç uygulanan grupta plazma AST ve ALT değerlerinde kontrol grubuna kıyasla artışlar, karaciğer GSH, C vitamini değerlerinde belirgin olarak azalmalar, hepatik CAT aktivitesinde de azalmalar gözlemlenmiştir. El-Sherbiny ve ark. (2009)'nin sıçanlarda yaptığı çalışmada, amoksisilin klavulanik asit (50 mg/kg) verilen grupta, kontrol grubuna göre serum ALT ve AST değerlerinin daha yüksek olduğu, hepatik GSH düzeyinin daha düşük, hepatik MDA düzeyinin ise daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Böbrek dokusu CAT aktivitesinde kontrole kıyasla, 1. grupta ($p < 0.01$) ve 6. grupta ($p < 0.05$) önemli bir artma, 4. grupta ($p < 0.01$) ise azalma gözlemlendi. Diğer gruplardaki değişimler istatistiksel olarak anlamsızdı. Karaciğer dokusu CAT aktivitesi bütün gruplarda azalmış olup, bu azalmalar 1., 2. grupta ($p < 0.01$) ve 6. grupta ($p < 0.05$) düzeyinde önem göstermiştir. Değişmiş CAT aktivitesi birçok hastalıkta görülebilmektedir. Diabetes mellitusta, malign hastalıklarda, Down sendromunda, nefrotoksitesinin deneysel koşullarında ve yenilenmekte olan dokularda azalmış katalaz aktivitesi gösterilmiştir (Djordjević ve ark. 2000). Böbrek dokusu vitamin C miktarı 1. grupta önemli derecede düşük bulundu ($p < 0.001$). Diğer gruplarda saptanan miktarlarda istatistiksel bakımdan bir önem gözlemlenmedi. Karaciğer dokusu vitamin C miktarları 1. ve 2. grupta düşüktü (sırasıyla $p < 0.001$, $p < 0.01$), diğer gruplarda gözlenen değişimler önemsizdi. Çalışmalar hücre içi C vitamini redoks durumunun intraselüler GSH düzeyi tarafından kontrol edildiğini göstermiştir. C vitamini antioksidan savunmanın birinci basamağında olan serbest radikal oksidasyonuna karşı çok duyarlı bir bileşiktir, iyi bir radikal temizleyicisidir (Olayinka ve Olukowade, 2010). Hayvanlar üzerinde yapılan endojen lipid peroksidasyonunun ölçüldüğü çoğu çalışmada C vitamininin peroksidasyon miktarını düşürdüğü gözlemlenirken (Barja ve ark. 1994, Tanaka ve ark. 1997) bazı çalışmalarda bu durum gözlemlenmemiştir (Cadenas ve ark. 1996). Daş (2009)'ün yaptığı çalışmada, enzootik pneumonili kuzulara %10'luk enrofloksasin çözeltisi ve

amoksisilini parenteral olarak verilmiştir. Ayrıca bir gruba antibiyotiğe ilave olarak E vitamini parenteral olarak uygulanmış, bu grupta ilave E vitamini tedavisinin total antioksidan kapasite seviyesi üzerine herhangi bir değişikliğe yol açmadığı hatta total antioksidan kapasite düzeyini düşürdüğü bildirilmiştir. Acharya ve ark. (2013), gentamisin kaynaklı nefrotoksisitede oksidatif stresi ve C vitamininin önleyici etkilerini araştırmışlar, gentamisin ile birlikte C vitamini uygulamasının, nefrotoksisitesiyi önemli ölçüde engellediğini belirtmişlerdir. Vitamin E serbest radikal zincir reaksiyonlarını önlemek için oksijen radikalleriyle reaksiyona giren ana endojen antioksidandır. Vitamin E gibi endojen antioksidanların miktarı serbest radikallerle etkileşimleri sonucu azalmaktadır (Paolini ve ark. 1999). Sezikli ve ark. (2012)'nin yaptığı çalışmada *Helicobacter pylori*'nin standart üçlü tedavisine (proton pompa inhibitörü+klaritromisin+amoksisilin) ek olarak, tedaviye C ve E vitamininin eklenmesiyle *H. pylori*'nin eradikasyon oranını artırdığını; bunun nedeni olarak da vitaminlerin gastrik mukozada oksidatif stresi azaltarak antibiyotik etkinliğini artırdığını ileri sürmüşlerdir. Böbrek dokusu total protein miktarları, 1. ve 6. gruplarda azalmış, 2., 3., 4. ve 5. gruplarda artmıştır. Karaciğer dokusu total protein miktarları sadece 4. grupta anlamlı bir şekilde ($p < 0.001$) azalmıştır. 1. grupta plazma ALT düzeyi önemli düzeyde bir artış gösterdi ($p < 0.001$). 2. 5. ve 6. gruplardaki artışlar, 3. ve 4. gruplardaki azalmalar önemsizdi. AST enzim düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmedi. GGT enzim düzeylerinin 1., 2., 4. ve 6. gruplarda daha yüksek olduğu gözlemlendi. Antibiyotik uygulanmasıyla plazmada bu enzimlerin yükselmesi hasar gören dokuların enzimlerinin salınmasının sonucu olabilir. Plazma ALT ve AST düzeylerinin artması, hepatositlerin nekroze olduğu koşullarda görülmektedir (Macfarlane ve ark. 2000). GGT; kolestaz, tıkanma sarılığı, siroz, primer biliyer siroz, akut veya kronik hepatit durumlarında artış gösterir (Tuzcu 2003). Bu bağlamda sunulan çalışmada, amoksisilin klavulanik asit kullanımında MDA, antioksidan maddeler, vitaminler ve enzim düzeylerinde gözlenen değişimler, karaciğer ve böbrek hücrelerinde oksidatif hasardan kaynaklı kısmen yıkımlanmanın şekillenmiş olabileceğini göstermektedir. Hastalığın radikal tedavisi süresince kullanılan ilaçlardan kaynaklanabilecek olası oksidatif hasarlara karşı antibiyotiğe ek olarak antioksidanların da kullanılmasının faydalı olabileceği kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

Acharya C, Thakar H, Vajpeyee SK. A study of oxidative stress in gentamicin induced nephrotoxicity and effect of antioxidant

vitamin C in Wistar rats. *Natl J Physiol Pharm Pharmacol.* 2013; 3(1):14–20.

Aebi H. Catalase in vitro. *Enzymol.* 1984; 105:121–6.

Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Birinci Baskı, Konya: Mimoza Yayınları 1995; 50-120.

Barja G, Lopez-Torres M, Perez-Campo R, Rojas C, Cadenas S, Prat J, Pamplona R. Dietary vitamin C decreases endogenous protein oxidative damage, malondialdehyde, and lipid peroxidation and maintains fatty acid unsaturation in the guinea pig liver. *Free Radic Biol Med.* 1994; 17: 105–15.

Brunton LL, Lazo JS, Parker KL. Goodman & Gilman Tedavinin Farmakolojik Temeli, Çev. Ed: Süzer Ö, İstanbul; Nobel Tıp Kitabevleri, 2009; 1133-52.

Cadenas S, Lertsiri S, Otsuka M, Barja G, Miyazawa T. Phospholipid hydroperoxides and lipid peroxidation in liver and plasma of ODS rats supplemented with alpha tocopherol and ascorbic acid. *Free Radic Res.* 1996; 24: 485–93.

Crossman G.A. Modification of Mallory's connective tissue stain with a discussion of the principles involved, *The Anatomical Record.* 1937; 69(1): 33-8.

Daş A. Enzoötik pnemoni besi kuzularında tedaviye selenyum ve vitamin E eklenmesinin total oksidan ile antioksidan seviyeleri üzerine etkilerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa 2009; p. 30-9.

Djordjević BV, Ćosić V, Pavlović D, Vlahović P, Jevtović T, Kocić G, Savić V. Does captopril change oxidative stress in puromycin aminonucleoside nephropathy? *Renal Fail.* 2000; 22: 535-44.

Durmuş AS, Ünsaldı E. Serbest oksijen radikalleri, antioksidanlar ve kırık iyileşmesi. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları* 2005; 20-7.

Dwyera DJ, Belenkya PA, Yanga JH, MacDonald IC, Martell JD, Takahashie N, Chana CTY, Lobritza MA, Braff D, Schwarza EG, Yea JD, Patih M, Vercruyssee M, Ralifoh PS, Allisoni KR, Khalilb AS, Tingd AY, Walkere GC, Collinsa JJ. Antibiotics induce redox-related physiological alterations as part of their lethality. *PNAS.* 2014; 6: 2100-9.

El-Sherbiny GA, Ashraf Taye A, Abdel-Raheem IT. Role of ursodeoxycholic acid in prevention of hepatotoxicity caused by amoxicillin-clavulanic acid in rats. *Ann Hepatol* 2009; 8(2):134-40.

- Gönenç S.** Egzersiz ve oksidan stres. BESBD. 1997; 2(4): 26-38.
- Granowitz EV, Brown RB.** Antibiotic adverse reactions and drug interactions. Crit Care Clin. 2008; 24: 421-42.
- Kadkhodae M, Khastar H, Faghihi M, Ghaznavi R, Zahmatkesh M.** Effects of co supplementation of vitamins E and C on gentamicin-induced nephrotoxicity in rat. Exp Physiol. 2005; 90(4): 571-6.
- Kaya S.** Veteriner Farmakoloji. Dördüncü Baskı, Ankara: Medisan Yayınları 2007; 361-8.
- Keren I, Wu Y, Inocencio J, Mulcahy LR, Lewis K.** Killing by bactericidal antibiotics does not depend on reactive oxygen species. Science. 2013; 339 (6124): 1213-6.
- Kohanski MA, Dwyer DJ, Hayete B, Lawrence CA, Collins JJ.** A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics. Cell. 2007; 130:797-810.
- Lucena MI, Andrade RJ, Fernández MC, Pachkoria K, Pelaez G, Duran JA, Villar M, Rodrigo L, Romero-Gomez M, Planas R, Barriocanal A, Costa J, Guarner C, Blanco S, Navarro JM, Pons F, Castiella A.** Determinants of the clinical expression of amoxicillin-clavulanate hepatotoxicity: a prospective series from Spain. Hepatology. 2006; 44: 850-6.
- Macfarlane I, Bomford A, Sherwood RA.** Liver Diseases and Laboratory Medicine. London: ACB Venture Publications 2000; 357-60.
- Olayinka ET, Olukowade IL.** Effect of amoxycillin/clavulanic acid (Augmentin 625®) on antioxidant indices and markers of renal and hepatic damage in rats. J Toxicol Environ Health Sci. 2010; 2(6): 85-92.
- Omaye ST, Turbul JD, Savberlich HE.** Ascorbic acid analyses. II. Determination after derivation with 2,2 dinitrophenylhydrazine, selected methods for determination of ascorbic acid in animal cell, tissues and fluids. Methods in Enzymology. 1979; 62: 7-8.
- Öncü S.** Antibiyotiklerin istenmeyen etkilerinin izlemi-yönetimi. ANKEM Derg 2013;27: 82-4.
- Paolini M, Pozzetti L, Pedulli GF, Marchesi E, Cantelli-Forti G.** The nature of prooxidant activity of vitamin C. Life Sci. 1999; 64: 273-8.
- Salvo F, Polimeni G, Moretti U, Conforti A, Leone R, Leoni O, Motola D, Dusi G, Caputi AP.** Adverse drug reactions related to amoxicillin alone and in association with clavulanic acid: data from spontaneous reporting in Italy. J Antimicrob Chemother. 2007; 60: 121-6.
- Sezikli M, Çetinkaya ZA, Güzelbulut F, Yeşil A, S. Coşgun S, Kurdaş OÖ.** Supplementing Vitamins C and E to standard triple therapy for the eradication of *Helicobacter pylori*. JCPT. 2012; 37: 282-5.
- Shinde A, Ganu J, Naik P.** Effect of free radicals & antioxidants on oxidative stress: A Review. J Dent Allied Sci. 2012;1(2):63-6.
- Sushil JK, Mcvie R, Duett J, Herbst JJ.** Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes. Diabetes. 1989; 38: 1539-43.
- Tabakoğlu E, Durgut R.** Veteriner hekimlikte oksidatif stres ve bazı önemli hastalıklarda oksidatif stresin etkileri. AVKAE Derg. 2013; 3(1): 69-75.
- Tanaka K, Hashimoto T, Tokumaru S, Iguchi H, Kojo S.** Interactions between vitamin C and vitamin E are observed in tissues of inherently scorbutic rats. J Nutr. 1997; 127: 2060-4.
- Tiftik AM.** Büüret Metoduyla Total Protein Tayini, Klinik Biyokimya, Konya: Mimoza Yayınları 1996; sayfa: 291-2.
- Trevor AJ, Katzung BG, Kruidering-Hall M, Masters SB.** Katzung & Trevor's Pharmacology Examination & Board Review, Tenth Edition, New York: McGraw Hill Companies Inc 2013; p: 384-448.
- Tuzcu S.** Tanıda Laboratuvar Testleri. Yedinci Baskı, İstanbul: Yüce Yayınları 2003; sayfa: 58-68.
- Ünal K, Palabıyık İM, Karacan E, Onur F.** Spectrophotometric determination of amoxicillin in pharmaceutical formulations. Turk J Pharm Sci. 2008; 5(1): 1-16.
- Valko M, Jomova K, Rhodes CJ, Kuca K, Musilek K.** Redox- and non-redox- metal- induced formation of free radicals and their role in human disease. Arch Toxicol. 2016; 90:1-37.
- Valko M, Leibfritz D, Jan Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Tels J.** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. IJBCB. 2007; 39: 44-84.
- Yüzüak H, Akbulut KG, Yüzüak S.** Yaşlanma sürecinde melatoninin pankreas dokusundaki oksidan ve antioksidanlara etkisi. JCEI. 2014; 5(4): 583-8.

Kısa Süreli Saklanan Epididimal Anadolu Mandası Spermalarına İlave Edilen Karnosik Asitin Etkisi

Deniz YENİ *, Fatih AVDATEK

Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, AFYONKARAHISAR

*Corresponding author e-mail: dyeni@aku.edu.tr

ÖZ

Bu çalışma biberiyeden (*rosmarinus officinalis*) elde edilen karnosik asitin epididimal manda spermalarının kısa süreli saklanmasında motilite, anormal spermatozoon oranları ve HOST/HE test oranları üzerine etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Sulandırılan spermalar kesim sonrası alınan 36 baş (4-5 yaşlı) Anadolu Mandası testisinden elde edildi. Her 6 testisten toplanan spermalar 5 eşit parçaya bölünerek gruplar oluşturuldu ve çalışma 6 kez tekrar edildi. Gruplar 12.5, 25, 50 ve 100 µg/ml karnosik asit ve antioksidan içermeyen Tris sulandırıcısından oluşturuldu. Sperma + 4 °C'ye düşürüldü ve 0., 24. ve 48. saatlerde spermatolojik veriler değerlendirildi. Motilite yönünden 0. saatte gruplar arasında herhangi bir fark tespit edilmemiş 24. saat bulgularında ise kontrole göre tüm gruplardaki motilite değerleri yüksekti. Bunun yanında 48. saatte motilite değerleri ise 12.5, 25 ve 50 µg/ml lik gruplarda kontrol grubuna göre yüksekti. Bu değerlerin istatistiki açıdan önemliydi (p<0.05). Toplam anormal spermatozoon yönünden karnosik asidin koruyucu etkisi sırasıyla 0. saatte 12.5 µg/ml'lik grupta, 24. saatte 12.5 ve 25 µg/ml grupta ve 48. saatte tüm gruplarda önemli bulundu (p<0.05). H+/E- yönünden değerlendirildiğinde karnosik asitin 0. saatte 25 µg/ml'lik grupta 24 ve 48. saatlerde ise tüm gruplarda koruyucu etkisinin önemli olduğu tespit edildi (p<0.05). Sonuç olarak Manda epididimal spermalarının + 4 °C saklanmasında sulandırıcıya eklenen karnosik asitin motilite, spermatozoon morfolojisi, membran bütünlüğü ve canlılığı açısından özellikle 12,5 ve 25 µg/ml lik dozlarının kontrol grubuna göre koruyucu etki gösterdiği belirlenmiştir.

Anahtar Kelime: Epididimal Sperma, Karnosik Asit, Kısa Süreli Saklama, Manda.

Effect of Carnosic Acid On The Short Term Storage Anatolian Buffalo Epididymal Sperm

ABSTRACT

This study was conducted to determine the effect of carnosic acid, extracted from rosemary (*rosmarinus officinalis*), to epididymal buffalo sperm to short-term motility, abnormal spermatozoon rates and HOS test ratio. Semen samples were obtained from 36 (4-5 year old) Anatolian buffalos after the slaughtering. Semen were collected from each 6 testes they were divided into 5 equal parts and groups were formed and the study was repeated 6 times. The groups were composed with the Tris extender containing carnosic acid 12.5, 25, 50 and 100 µg / ml and no-additive (control). Semen were cooled to +4 °C and spermatological data was evaluated at 0, 24 and 48. hours. Although there was no difference between the groups at the 0.h when evaluated in terms of motility, in 24. h motility values were higher in all groups than control. Besides, 48.h motility values were higher in groups of 12.5, 25 and 50 µg / ml than control. these values were statistically significant (p <0.05). In terms of total abnormal spermatozoon the protective effect of carnosic acid was found significantly in 12.5 µg / ml group at 0 h, 12.5 and 25 µg / ml group at 24 h and all groups at 48 h. respectively. With regard H+/E-, protective effect of carnosic acid was determined in 25 µg/ml group and in all groups at 24 and 48 h. In conclusion, it was determined that the doses of 12.5 and 25 µg / ml of carnosic acid added to extender in +4 °C storage of buffalo epididymal sperm showed a protective effect compared to the control group in terms of motility, spermatozoon morphology, membrane integrity and viability.

Key Words: Epididymal Sperm, Carnosic Acid, Short Term Storage, Buffalo.

To cite this article: Yeni D. Avdatek F. Kısa Süreli Saklanan Epididimal Anadolu Mandası Spermalarına İlave Edilen Karnosik Asitin Etkisi *Kocatepe Vet J. (2017) 10(3): 187-195.*

GİRİŞ

Manda (*Bubalus bubalis*) dünyada yaygın olarak bulunan ve bulunduğu yöreye özgü olarak ekonomik değer taşıyan bir türdür. Özgün ve nitelikli süt, peynir, kaymak ve et verimi, pek çok hastalığa karşı dayanıklı olması, gücünden faydalanılması, inekler kadar özen istememeleri, kalitesiz kaba yemleri değerlendirebilmesi, bakım ve idari giderlerinin düşük düzeylerde olması gibi sebeplerden dolayı alım gücü düşük yetiştiriciler için uygun çiftlik hayvanlarıdır (Küçükkebağcı ve ark. 2002). Manda varlığı 2014 yılı verilerine göre çoğu Asya ve Afrika ülkelerinde olmak üzere yaklaşık 195 milyon kadardır (FAO, 2017). Ülkemizde Anadolu Mandası adı verilen Türkiye'ye özgü bir ırk bulunmakta olup, Akdeniz mandalarından ayrı veya onun küçük yapılı bir varyetesi oldukları öne sürülmektedir (Uçar ve ark. 2005). Ülkemizde manda sayısı 2016 yılı itibarı ile 141.065 olarak bildirilmiş ve bu sayı giderek artma eğilimi göstermektedir. Türkiye'de manda yetiştiriciliği yaygın olarak İstanbul, Afyon, Samsun, Tokat, Sinop, Çorum ve Amasya illerinde yapılmaktadır (TÜİK, 2017). Biberiye, küçük iğne uçlu, 2 metreye kadar uzayabilen yaz kış yeşil kalabilen ve güçlü bir aromaya sahip çalı görünümüne sahip aromatik bir bitkidir. Yapraklarının ekstrakte edilmesiyle elde edilen uçucu yağdan yararlanılır. Antioksidan özelliği, yapısında bulunan karnosol, karnosik asit ve rosmarinik asitten kaynaklanmaktadır. Karnosik asitin antioksidan özelliğinin karnosoldan üç kat, Butillendirilmiş hidroksitoluen (BHT) ve Butillendirilmiş hidroksianisol (BHA)'dan ise yedi kat fazla olduğu bildirilmiştir (Frankel ve ark. 1996). Biberiyenin yapısında bulunan ve ekstrakte edilerek elde edilen karnosol ve karnosik asit kanser tedavisinde tümör gelişimini engelleyen önemli etken maddelerdendir (Lopez-Jimenez ve ark. 2013). Spermada reaktif oksijen türlerinin (ROS) ana kaynağının spermatozoonun kendisi olması yanında spermada bulunan lökositler ve nötrofillerde ROS kaynağı olarak bilinmektedir. Kısa veya uzun süreli saklama amacıyla farklı solüsyonlar ile spermanın sulandırılması, ROS'a karşı antioksidanların doğal kaynağı olan seminal plazma oranını ve antioksidatif yoğunluğu da seyreltmektedir. Ayrıca uzun veya kısa süreli saklama koşullarında atmosferik oksijen basıncına maruz kalan spermada oksidatif stres meydana gelebilmektedir (Arı ve Öztürkler, 2015). Biberiye biyoaktif maddeler, flavonoidler ve polifenoller içerdiğinden antioksidan özelliklere sahip çok yıllık bir bitkidir. Antioksidan desteğinin olası olumlu etkilerini belirlemek amacıyla pek çok çalışma yapılmıştır. Biberiye ekstraktının sperma sulandırıcısına katılması ile domuz (Malo ve ark. 2010, Luno ve ark. 2014.), geyik (Zanganeh ve ark. 2013), koç (Motlagh ve ark.2014)ve boğa

spermatozoon hücrelerinde (Daghigh-Kia ve ark. 2014) çözdürme sonrası spermatolojik özelliklerde koruyucu antioksidan özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir. Artmış oksidatif stres seviyeleri ile ilişkili olarak, motilite kaybı, membran ve DNA hasarlarının yanı sıra canlılık kaybına uğramış olan spermada, antioksidan desteğinin olumlu etkileri beklenebilir. Oksidatif stresle ilişkili ROS'da spesifik antioksidanların kullanımını optimize etmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (Taşdemir ve ark. 2014). Epididimal spermanın in vivo dölveriminin ejaküle spermaya kıyasla daha düşük olduğu bilinmektedir. Ejaküle spermanın, plazma membranına bağlanan protein türleri içermesi ve hareket özellikleri de dâhil olmak üzere birçok faktörden kaynaklı özelliklerden dolayı epididimal spermadan farklıdır (Lee ve ark. 1985, Goovaerts ve ark. 2006). Bunun yanı sıra epididimal spermatozoonlar, katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi çeşitli antioksidan enzimler tarafından fizyolojik olarak korunmaktadır (Vernet ve ark. 2004). Almeida ve ark.'nın (2016) elde ettikleri sonuçlar hem ejaküle spermatozoonun hem de dondurulup çözdürülmüş epididimal spermatozoonun, sığır embriyolarının in vitro üretiminde kullanılması için eşit derecede uygun olduğunu göstermektedir. Memelilerde bulunan cauda epididimis, ejaküle olmadan önce spermatozoonların depolandığı ve birkaç hafta boyunca dölleme kapasitesinin korunması için uygun bir ortam oluşturmaktadır (Jones, 2004). Bununla birlikte, hayvanların gametlerin hayvanın öldürülmesinden sonra hızlı dejenerasyona uğradığı ve epididimisin maruz kaldığı zaman ve sıcaklık gibi koşulların direkt olarak spermatozoonların yaşayabilirliğini etkilediği bilinmektedir. Bu nedenle, gametlerin toplanmasının hayvanın ölümünden hemen sonra yapılması gerekir (Kaabi ve ark. 2003). Bazı araştırmacılar, manda epididimisinden toplanan spermatozoonların ejaküle spermatozoonlarla aynı kalitede oldukları ve suni tohumlama uygulaması için güvenilir olduklarını bildirmişlerdir (Lambrechts ve ark. 1999, Herold ve ark. 2006). Tuncer ve ark. (2005) ise kısa süreli saklanan boğa spermaları spermanın alındığı gün dahil olmak üzere üç günden fazla kullanılmaması gerektiğini ve bunun sebebi olarakta motilitenin % 50' nin altına düşeceği ve döl verimini olumsuz yönde etkileyeceği olarak bildirmişlerdir. Bu araştırma biberiyeden (rosmarinus officinalis) elde edilen karnosik asitin epididimal manda spermasına farklı oranlarda (12.5, 25, 50 ve 100 µg/ml) katılmasının 0., 24. ve 48. saatlerdeki motilite, anormal spermatozoon oranları ve HOST/HE test sonuçlarının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Afyonkarahisar ilinde özel bir mezbahadan kesim öncesinde genel muayene açısından bir sorun gözlenmeyen hayvanlardan, kesim sonrası alınan 36 adet (4-5 yaşlı) Anadolu Mandası testisi (tek taraflı) çalışmanın materyal bölümünü oluşturdu. Lambrechts ve ark.'nın(1999) bildirdiği gibi mezbahada kesilen mandaların testisleri kesimin hemen ardından skrotumun bir bıçak yardımıyla kesilip açılması ile dışarı çıkarıldıktan sonra spermatik kord'dan kesilerek epididimisleri ile birlikte alındı. Alınan testisler, içerisinde buz kalıpları (+4°C) bulunan kapalı bir kaba konularak kesimden sonraki 15 dakika içinde laboratuvara ulaştırıldı ve bunu takiben en geç 2 saat içinde spermanın elde edilmesi ve işlenmesi tamamlandı. Laboratuvara getirilen testislerden epididimisler ayrıldı ve steril bir bisturi yardımıyla kauda epididimis üzerine kesitler yapılarak, spermanın dışarı çıkması sağlandı. Daha sonra dışarı alınan sperma steril bir enjektör yardımıyla çekilerek toplandı (Patrizio ve ark.1988). Her bir testisten elde edilen sperma TYS (Tris: 30,7 g, Sitrik Asit: 16,4 g, Fruktoz: 12,6 g, Yumurta Sarısı: % 20, Penicillin: 1000 IU/ml, Streptomycin: 1000 microgram/ml, Distile su: 1000 ml'ye tamamlandı pH: 6,8) solüsyonu içine alındı. Karnosik asit (Sigma, C 0609-10 MG), 1 ml etanol (% 99) ile seyreltildi ve stok çözeltisi hazırlandı. Toplanan ve pooling yapılan spermalar beş eşit hacme bölündü ve her bir payette 80×10^6 spermatozoon/ml olacak şekilde karnosik asit içeriği (12,5, 25, 50 ve 100 µg/ml) olan ve antioksidan içermeyen kontrol grubu ile sulandırıldı. Her bir tekrar için 6 mandaya ait testisler pooling yapılarak kullanıldı ve 6 tekrar yapıldı. Soğutma kabineine nakledilen sulandırılmış spermaların sıcaklığı +4°C'ye düşürüldü. Daha sonra farklı yoğunluklarda karnosik asit içeren ve kontrol grubuna ait örnekler, 0., 24., ve 48. saatlerde spermatolojik parametreler yönünden muayene edildi.

Spermatolojik Muayeneler

Sperma motilitesi her gün aynı saatte 37°C'ta ısıtma tablalı faz kontrast mikroskopta (Olympus CX31, Olympus Optical Co., Ltd., Japan) ve en az 3 alan olacak şekilde 200x ve 400x lik büyütmede değerlendirildi ve % olarak kaydedildi.

Anormal spermatozoon oranı Giemsa boyama yöntemiyle boyanan slaytlar immersiyon objektif altında (100x) incelenerek çeşitli spermatozoon kısımlarına (baş, orta kısım ve kuyruk) ait bozukluklar ve bunların görülme oranları tespit edildi (Watson, 1975). Her slatta 200 hücre sayıldı ve % olarak kaydedildi.

Spermatozoon membran bütünlüğü ve canlılığının belirlenmesi amacıyla HOST-HE testi uygulandı

(Gündoğan ve ark. 2011). Sperma örneklerinin 100 mOsm/l(Kumar ve ar. 2014)ye ayarlanmış fruktoz solüsyonu içerisine % 1'lik eozin-Y ilave edildi ve 35°C de 30 dakika inkübe edildi.İnkübasyon sonrası froti çekilen lamalar hızlıca kurutularak hazırlandı. Hazırlanan preparatlardan toplam 200 hücre sayıldı vedört tipe (Tip I: kuyruk şişmiş ve baş boya almamış, HOS + /E- ;Tip II: kuyruk şişmemiş ve baş boya almamış, HOS- / E-; Tip III: kuyruk şişmiş ve baş boya almış, HOS + / E +; Tip IV: kuyruk şişmemiş ve baş boya almış, HOS- / E +) göre spermatozoon başının boya alma ve spermatozoon kuyruğunun kıvrılma durumuna göre değerlendirildi.

İstatistiksel Analizler

Araştırmada, her gruba ait spermatolojik parametrelerin (spermatozoa motilitesi, anormal spermatozoa veHOST-HE test) karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi uygulandı. Fark çıkan grupların karşılaştırılmasında Duncan testi kullanıldı. P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmamızda 0. saat spermatolojik parametrelere ait değerler Tablo 1'de sunulmuştur. Buna göre motilite yönünden gruplar arasında herhangi bir fark gözlenmemiş olmasına karşın baş anomalileri yönünden 25 µg/ml lik, orta kısım ve toplam anormal spermatozoon oranına göre ise 12,5 µg/ml lik grupta sonuçlar kontrol grubuna göre azalma istatistiki açıdan önemli bulundu(p<0,05). H+E-değeri ise 25 µg/ml lik gruptaki artış kontrol grubuna göre istatistiki açıdan önemli bulundu(p<0,05). Araştırmamızın 24. saate verileri Tablo 2'de verilmiş olupkontrol grubuna göre tüm gruplardaki yüksek motilite değerleri, toplam anormal spermatozoon oranı yönünden kontrole kıyasla 12,5 ve 25 µg/ml lik gruplardaki düşük oranlar ve tüm karnosik asit gruplarındaki yüksek H+E- oranları kontrolle karşılaştırıldığında istatistiki açıdan önemli (p<0,05) olduğu görüldü. Elde edilen 48. saat verilerine bakıldığında 12,5,25 ve 50 µg/ml lik gruplar kontrol grubuna göre yüksek bulundu ve bu değerlerin istatistiki açıdan önemli (p<0,05) olduğu görüldü. Karnosik asit gruplarının tamamında gerek anormal spermatozoon oranları gerekse H+E- değerleri açısından elde edilen koruyucu etkinin kontrolle kıyaslandığında istatistiki açıdan önemli (p<0,05) olduğu tespit edildi.

Tablo 1: Epididimal manda spermatozoonlarının 0. saatte elde edilen ortalama spermatojolojik parametreleri.
Table 1: Mean spermatological parameters obtained at 0 h of epididymal buffalo spermatozoa.

0 h									
Gruplar (n=6)	Motilite (%)	Anormal Spermatozoon Oranı				H+E- (%)	H-E- (%)	H+E+ (%)	H-E+ (%)
		Baş (%)	Orta Kısım (%)	Kuyruk (%)	Toplam (%)				
Kontrol	73.3±2.10 ^{ab}	3.0±0.28 ^c	14.0±0.38 ^b	6.4±0.30	23.4±0.68 ^b	68.5±0.76 ^b	10.6±0.71 ^c	13.0±0.57 ^b	7.8±0.70 ^{bc}
12.5 mg/ml	75.0±2.23 ^{ab}	3.2±0.21 ^c	11.5±0.76 ^c	5.9±0.43	20.6±0.78 ^c	70.8±1.19 ^{ab}	13.3±0.95 ^{bc}	8.50±0.42 ^c	6.0±0.81 ^{cd}
25mg/ml	76.6±2.10 ^{ab}	2.1±0.15 ^d	14.8±0.44 ^{ab}	5.8±0.50	22.8±0.87 ^b	73.8±1.49 ^a	12.3±0.66 ^{bc}	7.6±0.84 ^c	5.5±0.92 ^d
50 mg/ml	78.3±1.66 ^{ab}	3.9±0.23 ^b	14.6±0.68 ^{ab}	5.3±0.38	22.9±0.72 ^b	64.8±0.94 ^c	16.3±1.33 ^a	9.6±0.61 ^c	9.1±0.47 ^{ab}
100 mg/ml	71.6±1.66 ^b	4.7±0.21 ^a	16.1±0.52 ^a	6.0±0.28	26.8±0.45 ^a	55.8±0.79 ^d	14.3±0.76 ^{ab}	18.6±0.95 ^a	11.1±0.79 ^a

a-d Aynı sütun içerisinde farklı harf taşıyan değerler arasındaki farklar istatistiki olarak önemlidir.(p<0,05)

Tablo 2: Epididimal manda spermatozoonlarının 24. saatte elde edilen ortalama spermatolojik parametreleri.

Table 2: Mean spermatological parameters obtained at 24 h of epididymal buffalo spermatozoa.

Gruplar (n=6)	Motilite (%)	24 h				H+E- (%)	H-E- (%)	H+E+ (%)	H-E+ (%)
		Anormal Spermatozoon Oranı							
		Baş (%)	Orta Kısım (%)	Kuyruk (%)	Toplam (%)				
Kontrol	31.6±1.66 ^{ab}	4.5±0.18 ^{ab}	11.0±0.53 ^{bc}	11.2±0.38 ^a	26.7±0.82 ^{ab}	47.6±0.88 ^d	22.3±0.87 ^a	16.1±1.35 ^b	15.5±0.76 ^a
12.5 µg/ml	46.6±2.10 ^a	3.6±0.23 ^{bc}	9.2±0.28 ^c	9.3±0.35 ^b	22.2±0.65 ^c	59.0±0.57 ^b	15.3±0.49 ^c	16.0±0.81 ^b	9.6±0.61 ^{bc}
25µg/ml	45.6±2.20 ^a	2.9±0.23 ^c	10.2±0.62 ^{bc}	7.4±0.30 ^d	20.5±0.62 ^c	71.8±1.35 ^a	13.5±1.25 ^c	8.8±0.94 ^c	7.8±1.19 ^c
50 µg/ml	43.3±2.10 ^a	4.8±0.38 ^a	11.8±0.76 ^b	8.4±0.15 ^{bc}	25.1±0.67 ^b	60.8±0.60 ^b	18.6±0.88 ^b	11.1±1.81 ^c	9.16±0.47 ^{bc}
100 µg/ml	41.6±1.66 ^a	5.4±0.56 ^a	14.0±0.61 ^a	8.3±0.35 ^{cd}	27.8±1.11 ^a	52.5±1.23 ^c	14.8±1.24 ^c	20.1±0.60 ^a	12.0±0.96 ^b

a-d Aynı sütun içerisinde farklı harf taşıyan değerler arasındaki farklar istatistiki olarak önemlidir.(p<0,05)

Tablo 3: Epididimal manda spermatozoonlarının 48. saatte elde edilen ortalama spermatolojik parametreleri.

Table 3: Mean spermatological parameters obtained at 48 h of epididymal buffalo spermatozoa.

Gruplar (n=6)	Motilite (%)	48 h				H+E- (%)	H-E- (%)	H+E+ (%)	H-E+ (%)
		Anormal Spermatozoon Oranı							
		Baş (%)	Orta Kısım (%)	Kuyruk (%)	Toplam (%)				
Kontrol	21.6±1.66 ^d	6.5±0.40 ^{ab}	7.4±0.41 ^b	16.6±0.27 ^a	30.5±0.90 ^a	31.0±2.25 ^d	17.5±0.99 ^a	23.5±1.33 ^a	28.0±2.06 ^a
12.5 mg/ml	43.3±2.10 ^a	4.7±0.21 ^c	7.6±0.30 ^b	13.4±0.30 ^b	25.7±0.47 ^c	52.8±3.09 ^b	12.0±0.73 ^{bc}	18.8±1.19 ^b	16.3±2.52 ^b
25mg/ml	40.0±2.58 ^{ab}	3.9±0.15 ^c	6.5±0.28 ^b	9.1±0.32 ^d	19.5±0.57 ^d	62.5±4.46 ^a	11.0±0.68 ^c	12.6±1.68 ^c	14.0±2.43 ^b
50 mg/ml	33.3±2.10 ^{bc}	6.4±0.47 ^b	10.1±0.55 ^a	10.5±0.28 ^c	26.4±0.71 ^c	41.8±0.94 ^c	14.3±0.71 ^b	20.3±0.21 ^{ab}	23.5±0.76 ^a
100 mg/ml	28.3±3.07 ^{cd}	7.5±0.36 ^a	10.2±0.23 ^a	10.8±0.30 ^c	28.4±0.15 ^b	43.5±1.89 ^c	13.5±0.99 ^{bc}	19.8±1.04 ^{ab}	23.1±2.30 ^a

a-d Aynı sütun içerisinde farklı harf taşıyan değerler arasındaki farklar istatistiki olarak önemlidir.(p<0,05)

TARTIŞMA

Kauda epididimis canlılarda, spermatozoonların olgunlaşma ve hareketlilik kazanmaları için uygun bir ortam sağlar. Bununla beraber çalışmalar kauda epididimisten elde edilen spermatozoonların yalnızca seminal sıvı veya medyumlarla karşılaştıklarında hareket ettiklerini (Amann ve Almquist, 1962, Lima, 2013) ve bir canlının ölümünden saatler sonra bile işlevsel kaldıklarını göstermiştir (Chaveiro ve ark. 2015). Kaabi ve ark. (2003) post-mortem alınan testislerin saklama koşullarının, spermatozoa canlılığı üzerine de bir miktar etkisi olduğunu bildirmektedirler. Ölüm sonrası kauda epididimisten toplanan spermatozoon hücrelerinin kalitesindeki değişimin iklim koşullarına, sıcaklığa, işleme koşullarına veya tür farklılıklarına bağlı olarak değişebileceği bildirilmiştir. Bununla birlikte, kısa süreli saklama ile spermatozoon hücrelerinin metabolik hızını ve dejenerasyonunu yavaşlatarak daha uzun bir süre canlı tutulabildiği belirtilmiştir (Tittarelli ve ark. 2006). Farklı türlerde daha önce yapılan çalışmalar post-mortem etkilenen ilk parametrenin epididimal spermatozoon motilitesinin ardından morfolojik değişiklikler olduğunu göstermiştir (Yu ve Leibo 2002, Kaabi ve ark. 2003, Martinez-ve ark. 2005, Muradás ve ark. 2006). Songsasen ve ark. (1998) bunun nedeni olarak post-mortem bekleme süresinin uzamasının motil spermatozoonların dejenerasyonu ve bozulmasını artırdığını belirtmişlerdir. Çalışmalarında 24 saate kadar akrozom bütünlüğü ve canlılık oranlarında fark olmadığını bunun aksine spermatozoa motilitesinin ölümünden 0 ila 12 saat sonra toplananlara kıyasla 18. ve 24. saatte toplandığında azaldığını bildirmişlerdir. Sunmuş olduğumuz çalışmada 0. saat motilitesi ile 24 ve 48. saatlerdeki motiliteki kayıpların belirtilen çalışmalarla uyumlu olduğu gözlenmiştir. Barati ve ark. (2009) yaptıkları epididimal manda spermasının in vivo kısa süreli saklama çalışmasında 0., 24. ve 48. saatte elde ettikleri motilite değerlerini sırasıyla % 73.4±3.4, % 37.5±3.5 ve % 27.1±3.2 olarak bildirmişlerdir. Bu değerler yapmış olduğumuz in vitro 24. ve 48. saat verilerinden düşük bulunmuş ve aradaki farkın epididimis ortamı ile sulandırıcı ve sulandırıcıya ilave edilen antioksidan yoğunluğundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Yulnawati ve ark. (2009) epididimal manda spermasında sulandırma sonrası anormal spermatozoon oranını %15 olarak belirledikleri çalışmaya karşın yapmış olduğumuz çalışmada gerek kontrol gerekse karnosik asit gruplarında yüksek anormal spermatozoon oranları tespit edilmiştir. Ortaya çıkan bu farklılığın çalışmamızda orta kısım da stoplazmik damlacığın yüksek olmasıyla ilgili olduğu yönünde değerlendirilmektedir. Lambrechts ve ark. (1999) yaptıkları araştırmada epididimal manda

spermasında anormal sperma oranlarını sırasıyla % 31.3±7.6 ve 24.7±6.7 olarak belirlemişler ve bu yüksek oranın stoplazmik damlacık ve diğer anomalilerden kaynaklandığını bildirmişlerdir. Bu değerler çalışmamız ile uyumlu bulunmuştur.

Araştırmamızda çarpıcı bir şekilde 24. ve 48. saatlerde stoplazmik damlacık oranlarında düşüş görülmüştür. Bu durumun Harayama ve ark. (1996)'nın domuzlarda fruktoz ilavesinin spermatozoadaki stoplazmik damlacık sayısını azalttığı çalışmada bildirdikleri gibi sulandırıcıya katılan maddelerden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Hoseinzadeh-Sani ve ark. (2013) tekelerde yaptıkları çalışmada kesim sonrasında 4 °C'de sakladıkları testislerden 0., 24., 48. ve 72. saatlerde sperma elde ederek dondurdukları çalışmalarında stoplazmik damlacık yüzdelерinin depolama süresinin uzamasına bağlı olarak dondurma öncesi ve çözündürme sonrasında azalma eğiliminde olduğunu bildirmişlerdir. Karnosik asit ve karnozol abietan tipindeki fenolik diterpenlerdir ve rosmarinik asit, kafeik asit ve 3,4-dihidroksifenilakton'un bir esteridirler (fenolik depilasyon). Biberiye özündeki bu maddelerin belirgin antioksidan, antiinflamatuvar ve sitotoksik özellikleri vardır. (Bai ve ark. 2010, Mulinacci ve ark. 2011). Daghigh-Kia ve ark. (2014) yalnız biberiye ekstaktı (10 g L⁻¹) ilavesinin ve glutatyon (5 mM glutatyon + 10 g L⁻¹ biberiye ekstaktı) ile kombinasyon halinde boğa spermasında ROS üretimine karşı hücre içi savunma sistemini önemli ölçüde iyileştirdiğini, ayrıca Malo ve ark. (2010) MDA üretiminin, domuz spermasında dondurma-çözündürme sonrası sulandırıcıya ilave edilen biberiye ekstaktının (10 g 100 L⁻¹) varlığından etkilendiğini belirtmiştir.

Malo ve ark. (2010) sulandırıcıya eklenen biberiye ekstaktının domuz spermatozoonunun motilitesini iyileştirdiğini, Zanganeh ve ark. (2013) geyik spermasına katılan biberiye ekstaktının (% 4 düzeyinde) çözüm sonrası spermatozoon motilitesi, membran bütünlüğü ve canlı spermatozoon oranları üzerine koruyucu etki gösterdiğini ve Daghigh-Kia ve ark. (2014) rozmarinik asit ilavesinin (10 g L⁻¹) canlı spermatozoon oranı ve motiliteyi koruduğunu bildirmişlerdir. Motlagh ve ark. (2014) koçlarda biberiye ekstaktının % 4 ve % 6 lık konsantrasyonlarının çözüm sonu yüksek motilite, membran bütünlüğü ve canlı spermatozoon oranları gösterdiklerini bildirmişlerdir. Yaptığımız literatür taramalarında epididimal manda spermasının kısa süreli saklanması üzerine karnosik asitin ya da biberiye ekstaktının etkisini gösteren herhangi bir çalışmaya rastlamamış olsak da yukarıda verdiğimiz literatürlerde biberiye ekstaktının spermatolojik verilere yaptığı olumlu etkinin çalışmamızda bulduğumuz değerler ile paralellik gösterdiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak, manda epididimal

spermasının kısa süreli saklanması sulandırıcıya eklenen karnosik asitin motilite, spermatozoon morfolojisi, membran bütünlüğü ve canlılığı açısından özellikle 12,5 ve 25 µg/ml lik dozlarının kontrol grubuna göre koruyucu etki gösterdiği belirlenmiştir. Bununla birlikte karnosik asitin etkilerini belirlemek amacıyla özellikle fertilitate sonuçlarının ortaya konulacağı daha kapsamlı çalışmalara gerek vardır.

KAYNAKLAR

- Almeida FC, Silva SV, Souza HM, Gomes WA, Lima Filho JAC, Wicke AA, Batista AM, Guerra MMP.** Effects of glycerol, equilibration time and antioxidants on post-thaw functional integrity of bovine spermatozoa directly obtained from epididymis. *Andrologia*. 2017; 49(3) 1-9.
- Amann RP, Almquist JO.** Reproductive capacity of dairy bulls VIII. Direct and indirect measurement of testicular sperm production. *J. Dairy Sci.* 1962; 45 774-781.
- Bai N, He K, Roller M, Lai CS, Shao X, Pan MH, Ho CT.** Flavonoids and phenolic compounds from *Rosmarinus officinalis*. *J Agric Food Chem.* 2010; 58(9) 5363-5367.
- Arı UÇ, Öztürkler Y.** Spermanın Kısa ve Uzun Süreli Saklanması Oksidatif Stres ve Antioksidan Kullanımı. *Türkiye Klinikleri J Reprod Artif Insemin Special Topics.* 2015; 1(3)16-21.
- Barati F, Khaksary MM, Mohammadi, G.** Cryopreservation of in situ cool stored buffalo (*Bubalus bubalis*) epididymal sperm. *Iran. J. Vet. Res.* 2009; 10(4) 339.
- Chaveiro A, Cerqueira C, Silva J, Franco J, Moreira da Silva F.** Evaluation of frozen thawed cauda epididymal sperms and in vitro fertilizing potential of bovine sperm collected from the cauda epididymal. *Iran. J. Vet. Res.* 2015; 16(2) 188-193.
- Daghigh-Kia H, Olfati-Karaji R, Hoseinkhani A, Ashrafi I.** Effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extracts and glutathione antioxidants on bull semen quality after cryopreservation, *Spanish J. Agric. Res.* 2014; 12(1) 98-105.
- FAO.** Live animals. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA>. Erişim tarihi: 31.07.2017
- Frankel EN, Huang S, Aeschbach R, Prior E.** Antioxidant Activity of a Rosemary Extract and Its Constituents, Carnosic Acid, Carnosol, and Rosmarinic Acid, in Bulk Oil and Oil-in-Water Emulsion. *J. Agric. Food Chem.* 1996; 44(1) 131-135.
- Goovaerts I, Hoflack G, Van Soom A, Dewulf J, Nichi M, de Kruif A, Bols P.** Evaluation of epididymal semen quality using the Hamilton–Thorne analyser indicates variation between the two caudae epididymides of the same bull. *Theriogenology.* 2006; 66(2) 323-330.
- Gündoğan M, Avdatek F, Yeni D.** Effect of extenders on motility, morphology and osmotic resistance parameters of ram sperm during liquid storage *Revue Med. Vet.* 2011; 162(11) 546-551.
- Harayama H, Shibukawa T, Miyake M, Kannan Y, Kato S.** Fructose stimulates shedding of cytoplasmic droplets from epididymal boar spermatozoa. *Reprod Fertil Develop.* 1996; 8(7) 1039–1043.
- Herold FC, de Haas K, Colenbrander B, Gerber D.** Comparison of equilibration times when freezing epididymal sperm from African buffalo (*Syncerus caffer*) using Triladyl™ or Andromed®. *Theriogenology* 2006; 66(5) 1123-1130.
- Hoseinzadeh-SaniSKA, BaratiF, Mahabady MKM.** The effects of ex vivo cold-storage on cryopreservation of the goat (*Caprus hircus*) epididymal sperm. *Iran. J. Reprod. Med.* 2013; 11(9) 747-752.
- Jones R.** Sperm survival versus degradation in the mammalian epididymis: A hypothesis. *Biol Reprod.* 2004; 71(5) 1405-1411.
- Kaabi M, Paz P, Alvarez M, Anel E, Boixo JC, Rouissi H, Herraes P, Anel L.** Effects of epididymis handling conditions on the quality of ram spermatozoa recovered *post-mortem*. *Theriogenology.* 2003; 60(7) 1249-1259.
- Kumar A, Saxena A, Verma AK, Perumal P.** Hypo-Osmotic Swelling Test On Buffalo (*Bubalus Bubalis*) Semen. *Buffalo Bulletin.* 2014; 33(1) 111-114.
- Küçükkebabcı M, Aslan S.** Evcil Dişi Mandaların Üreme Özellikleri. *Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg.* 2002; 42(2) 55–63.
- Lambrechts H, van Niekerk FE, Coetzer WA, Cloete SW, van der Horst G.** The effect of cryopreservation on the survivability, viability and motility of epididymal African buffalo (*Syncerus caffer*) sperms. *Theriogenology* 1999; 52(7) 1241- 1249.
- Lee CN, Handrow RR, Lenz RW, Ax RL.** Interactions of seminal plasma and glycosaminoglycans on acrosome reactions in bovine spermatozoa in vitro. *Gamete research.* 1985; 12(4) 345-355.

- Lima ICS, Andrade IRA, Aguiar GV, Silva MM, Catunda AGV, Martins GA, Gadelha CRF, Campos ACN.** In vitro evaluation of goat cauda epididymal sperm, cooled in different extenders at 4°C. *Arch. Zootec.* 2013; 62(239) 429-437.
- Lopez-Jimenez A, Garcia-Caballero M, Medina MA, Quesada AR.** Antiangiogenic properties of carnosol and carnosic acid, two major dietary compounds from rosemary. *Eur. J. Nutr.* 2013; 52(1) 85–95.
- Luno L, Gil M, Olaciregui N, Gonzalez RA, Jerez IB.** Rosmarinic acid improves function and in vitro fertilising ability of boar sperm after cryopreservation. *Cryobiology.* 2014; 69(1) 157–162.
- Malo C, Gil L, Gonzalez N, Martinez F, Cano R, de Blas I, Espinosa E.** Anti-oxidant supplementation improves boar sperm characteristics and fertility after cryopreservation: Comparison between cysteine and rosemary (*Rosmarinus officinalis*). *Cryobiology.* 2010; 61(1) 142–147.
- Martinez-Pastor F, Guerra C, Kaabi M, Diaz AR, Anel E, Herraez P, Anel L.** Decay of sperm obtained from epididymes of wild ruminants depending on postmortem time. *Theriogenology.* 2005; 63(1) 24-40.
- Motlagh MK, Sharafi M, Zhandi M, Mohammadi-Sangcheshmeh A, Shakeri M, Soleimani M, Zeinoaldini S.** Antioxidant effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract in soybean lecithin-based semen extender following freeze-thawing process of ram sperm. *Cryobiology.* 2014; 69(2), 217-222.
- Mulinacci N, Innocenti M, Bellumori M, Giaccherini C, Martini V, Michelozzi M.** Storage method, drying processes and extraction procedures strongly affect the phenolic fraction of rosemary leaves: an HPLC/DAD/MS study. *Talanta.* 2011; 85(1) 167-176.
- Muradás PR, Weiss RR, Kozicki LE, Granemann LC, Santos IW, Pimpão CT.** Some viability parameters from equine spermatozoa harvested by artificial vagina and by epididymal tail washing. *Arch Vet Sci.* 2006; 11(3) 69-74.
- Patrizio P, Silber S, Ord T, Balmaceda J, Asch R** Two births after microsurgical sperm aspiration in congenital absence of vas deferens. *The Lancet.* 1988; 332(8624) 1364.
- Songsasen N, Tong J, Leibo SP.** Birth of live mice derived by in vitro fertilization with spermatozoa retrieved up to 24 hours after death. *J. Exp. Zool.* 1998; 280 189-196.
- Taşdemir U, Tuncer PB, Büyükleblebici S, Özgurtas T, Durmaz E, Büyükleblebici O.** Effects of Various Antioxidants on Cryopreserved Bull Sperm Quality. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 2014; 20(2) 253-258.
- Tittarelli C, Savignone CA, Arnaudín E, Stornelli MC, Stornelli MA, De La Sota RL.** Effect of storage media and storage time on survival of spermatozoa recovered from canine and feline epididymides. *Theriogenology.* 2006; 66(6-7) 1637-1640.
- Tuncer PB, Çevik M, Kinet H.** Holstayn Boğa Spermalarının +4°C'de Saklanması Farklı Sperm Sulandırıcılarının Motiliteye Etkisi. *Lalahan Hay. Arast. Enst. Derg.* 2005; 45 (2) 1–7
- TÜİK.** <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=21871>. Erişim tarihi: 31.07.2017
- Uçar M, Gündoğan M, Yılmaz O.** Mandalarda Mevsimsel Üreme Özellikleri ve Folliküler Dinamikler. *Hay. Araş. Derg.* 2005; 15(2) 24–29.
- Vernet P, Aitken R, Drevet J.** Antioxidant strategies in the epididymis. *Molecular and cellular endocrinology.* 2004; 216(1) 31-39.
- Watson PF.** Use of Giemsa stain to detect changes in the acrosome of frozen ram spermatozoa. *Vet Rec.* 1975; 97(1) 12-15.
- Yu I, Leibo SP.** Recovery of motile, membrane-intact spermatozoa from canine epididymides store for 8 days at 4°C. *Theriogenology.* 2002; 57(3) 1179-1190.
- Yulnawati, H, Maheshwari, H, Herdis and Rizal, M.** Viability and plasma membrane integrity of the spotted buffalo epididymal spermatozoa after thawing with the addition of dextrose into the extender. *Biotropia.* 2009; 16(1) 21-27.
- Zanganeh Z, Zhandi M, Zare-Shahneh A, Najafi A, Nabi MM, Mohammadi-Sangcheshmeh A.** Does rosemary aqueous extract improve buck semen cryopreservation? *Small Rum. Res.* 2013;114 120–125.

Afyonkarahisar Karamık Gölü'ndeki Turna Balıkları'nın (*Esox lucius* Linnaeus, 1758) Bağırsak Helmint Faunası Üzerine Bir Araştırma

Ece AKKENT, Mehmet Oğuz ÖZTÜRK*

Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Afyonkarahisar/TÜRKİYE

Corresponding author e-mail: oozturk@aku.edu.tr

ÖZ

Bu çalışma, Karamık Gölü'nde yaşayan turna balıkları bağırsak helmintleri yönünden incelenmiş ve 2 parazit tür kaydedilmiştir. Bu türlerden *Raphidascaris acus*'un (Nematoda) enfeksiyon yüzdesi %18,8; ortalama parazit sayısı ve standart sapması $2,9\pm 3,8$ olarak belirlenmiştir. Diğer tür olan *Acanthocephalus lucii*'nin (Acanthocephala) enfeksiyon oranı %10,9; standart sapması $1,4\pm 0,7$ olarak bulunmuştur. Konak balığın helmint faunası; mevsim, balık boyu ve eşey gruplarına göre değerlendirilmiştir. *Raphidascaris acus* enfeksiyonu yaz hariç diğer tüm mevsimlerde bulunmuş olup, en yüksek enfeksiyon yaygınlığı ilkbaharda, en yüksek parazit yoğunluğu ise kış döneminde kaydedilmiştir. *Acanthocephalus lucii* enfeksiyonuna ilkbahar ve kış döneminde rastlanılmış olup, parazite ait enfeksiyon değerlerinin kış periyodunda daha yüksek olduğu görülmüştür. *Raphidascaris acus*'un II, III ve IV yaş grubundaki tüm konak balıklarda var olduğu, enfeksiyon yüzdesinin en büyük yaş grubundaki balıklarda en yüksek seviyede olduğu kaydedilmiştir. Parazit yoğunluğu ise küçük ve orta yaş grubundaki balıklarda büyük yaş grubuna göre daha yüksektir. Benzer enfeksiyon verileri *A. lucii* için de geçerlidir. *Raphidascaris acus*'a ait parazit yoğunluğu erkek balıklarda, enfeksiyon yaygınlığı dişi balıklarda daha fazladır. *Acanthocephalus lucii*'ye ait hem enfeksiyon yaygınlığı hem de parazit yoğunluğu dişi balıklarda daha yüksektir. Her iki tür helmint mevcut çalışma alanından ilk kez bildirilmiştir. Parazitlere ait anatomik-morfolojik özellikler tanımlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Esox lucius*, *Acanthocephalus lucii*, *Raphidascaris acus*, Karamık Gölü

An Investigation on Intestinal Helminth Fauna of Pike (*Esox lucius* Linnaeus, 1758) from Lake Karamık, Afyonkarahisar

ABSTRACT

This study, it was made on intestinal helminth fauna of pike (*Esox lucius* L., 1758) in Lake Karamık and 2 parasite species were recorded. From these species, *Raphidascaris acus* (Nematoda) infection prevalence %18.8; mean parasite number and standart deviation 2.9 ± 3.8 were determined. Another species, *Acanthocephalus lucii* (Acanthocephala)'s ifection value is found %10.9; 1.4 ± 0.7 . The helminth fauna of the host fish was evaluated according to seasons, host fish age and sex groups. *R. acus* infection was recorded at all seasons except summer, and the highest infection prevalence was recorded in the spring (46.1%), and the highest parasite intensity was recorded in the winter period (4.2). *A. lucii* infection occurred in spring and winter, and the infection values of the parasites are higher in the winter period. It was noted that *R. acus* existed in all host fishes of group II, III and IV. The highest prevalence of infection with the parasite was recorded in the largest age group of fish. And parasitic intensity is higher in small and middle age groups than in older age groups. Similar infections are also available for *A. lucii*. While the parasite intensity of *R. acus* is recorded more in male fish, the prevalence of infection is higher in female fishes. Both of *A. lucii* infestation prevalence and parasite density are higher in female fish. Other hand, these species are new record for the present study area. Anatomic and morphologic features of the parasitic species were determined.

Key Words: *Esox lucius*, *Acanthocephalus lucii*, *Raphidascaris acus*, Lake Karamık

To cite this article: Akkent E. Öztürk M.O. Afyonkarahisar Karamık Gölü'ndeki Turna Balıkları'nın (*Esox lucius* Linnaeus, 1758) Bağırsak Helmint Faunası Üzerine Bir Araştırma. Kocatepe Vet.J. (2017) 10(3): 196-203.

GİRİŞ

Nüfusun hızla çoğalmasına bağlı olarak artan protein ihtiyacının karşılanmasında önemli yer tutan su ürünlerinin önemi, sağlıklı ve dengeli beslenme bilincinin gelişmesi ile daha da artmıştır. Başlıca su ürünleri arasında yer alan balıklar, esansiyel yağ asitleri içermeleri nedeniyle, yeri başka besinlerle doldurulamayan gıda kaynakları arasında yer almaktadır (Wassell *et al.* 2010).

Balıkları tehdit eden parazit organizmaların belirlenmesi, sağlıklı ve verimli balık yetiştiriciliği için büyük önem taşımaktadır. Parazitler balıklarda; kilo kaybına, büyümede yavaşlamaya, anatomik ve morfolojik gelişim anomalilerine hatta mortaliteye neden olabilmektedir (Mouritsen and Poulin 2002).

Kuzey turna balığı olarak bilinen *Esox lucius* doğrudan insan besini olması nedeniyle ekonomik bakımdan değerli bir balık türüdür (Geldiay ve Balık 1999). Afyonkarahisar ili Akarçay Havzası'nda yer alan Karamık Gölü'ndeki turna balığının parazit faunasının belirlenmesine yönelik herhangi bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bununla birlikte farklı lokalitelerdeki turna balıkları üzerine parazitolojik çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Supriaga ve Mozgovoij 1974, Moravec and Scholz 1991, Öztürk ve ark. 2002, Öztürk 2015).

Çalışma kapsamında; Karamık Gölü'nde yaşayan turna balığının bağırsak helmint faunasının belirlenmesi amaçlanmıştır. Böylece ekonomik bir balık türü ve kültür yetiştiriciliği yapılabilme potansiyeli olan turna balıklarında parazit durumu belirlenmiş olacaktır. Ayrıca elde edilecek verilerle, söz konusu sulak alanın biyo-ekolojik özelliklerinin tanımlanması ve Türkiye parazit faunasının belirlenmesi çalışmalarına da katkıda bulunulacaktır.

MATERYAL VE METOD

Karamık Gölü, Afyon ili Çay İlçesi Akarçay Havzasının 32° 28'K, 30° 53'D koordinatları arasında yer almaktadır. 1008 m yükseklikte olan gölün yüzey alanı yaklaşık 3700 hektar (ha), ortalama derinliği ise 3,5-4 m dir (Kazancı *et al.* 1999).

Gölü besleyen büyüklü-küçüklü çeşitli kaynaklar mevcut olup, en önemlisi Geneli Kaynağı'dır. Ayrıca göl havzasına düşen yağış, drenaj kaynakları vasıtasıyla gölü beslemektedir. Boşalım ise buharlaşma, karstik taşevi kaynaklarından havza dışına akış ve pompaj yoluyla olmaktadır (Kazancı *et al.* 1999).

Materyal Temini

Araştırma materyali olarak incelenen 111 turna balığı, Karamık Gölü'nün yaklaşık 1 ila 3 m derinliğinden

pinter ağlarıyla yakalandı. Balıklar, içinde göl suyu bulunan plastik bidonlara aktarılıp, araştırma laboratuvarına canlı olarak taşındı. 24 ila 48 saat içinde incelenen balıklar bu süre zarfında havalandırılmak üzere akvaryum tanklarında muhafaza edildi. İncelenen balıklar Balık ve ark.'a (2006) göre yaş gruplarına ayrıldı.

Parazitolojik İnceleme

İnceleme sürecinde balıkların öncelikle çatal boyları ölçüldü (Şekil 1). Bunu takiben balıklar, ürogenital açıklıktan itibaren farinks seviyesine kadar disseksiyona tabi tutularak karın boşluğu açıldı ve ön parazitik muayene yapıldı. Daha sonra sindirim borusu; ösafagus, mide, doudenum ve ileum olmak üzere dört ana parçaya bölündü. Her biri mumlu petri kapları üzerine sabitlendi ve dissekte edilerek iç kısımları görünür hale getirildi. Detaylı parazitik incelemede, ışık kaynağı ile desteklenmiş stereo mikroskoplardan yararlanıldı.



Şekil 1. Turna balığında boy ölçüm işlemi (orijinal)
Figure 1. Length measurement on pike (original)

Sindirim borusunda bulunan parazitler, disseksiyon iğnesi ve pipet yardımı ile alınarak 1/4000 Formaldehit solusyonunda 15 dakika fiksasyon işlemine tabi tutuldu. Daha sonra parazitlerin bir kısmı %70 etil alkolde müze materyali olarak korumaya alındı. Diğer bir kısmı ise Mayer's hematoksilen ile boyandı ve alkol serileri (%50, 70, 85, 95, absölu alkol) yardımı ile dehidratasyon işlemine tabi tutuldu. Daha sonra gliserin-jel ortamında daimi preparat haline getirildi (Pritchard and Kruse 1982).

Preparat bilgileri olarak; parazitin türü, stok numarası, konak canlıının yaşadığı lokalite, konak canlı türü, parazitin bulunduğu organ ve inceleme tarihi gibi bilgiler müze defterine ve materyalin üzerine not edildi. Tespit edilen parazitlerin tür tanımlamasında Bychovskaja-Pavlovskaja ve ark.'dan (1962) yararlanıldı. Parazitlere ait fotoğrafların çekimleri Olympus CH20 ışık mikroskobu ile gerçekleştirildi. Parazit yoğunluğu ve yaygınlığı hesaplamalarında Bush ve ark (1997)'dan yararlanıldı.

BULGULAR

Araştırma konusu kapsamında incelenen turna balıklarının bağırsaklarında 2 helmint türü bulundu. Bu türlerden biri *Raphidascaris acus* (Bloch 1779) (Nemathelminthes) diğeri ise, *Acanthocephalus luci*'dir (Müller 1776) (Acanthocephala).

Söz konusu parazit türlerin morfolojik ve anatomik özellikleri aşağıda detaylı olarak tanımlanmıştır.

Raphidascaris acus (Bloch 1779)'un morfolojik ve anatomik özellikleri

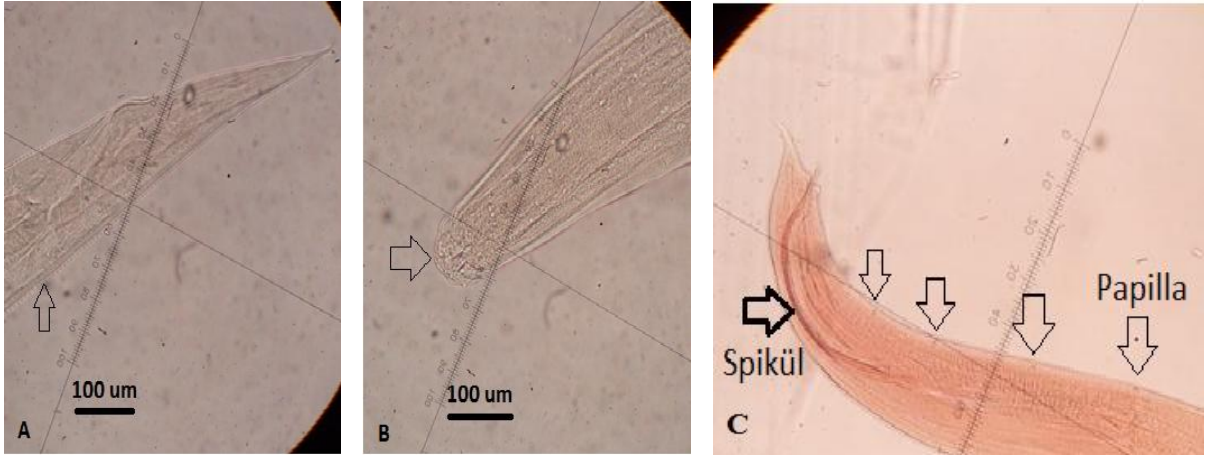
Orta büyüklükte, iki ucu sivrilerek sonlanan iplik şekilli nematodtur. Vücut yarı saydam renksiz bir kütikül ile kaplıdır. Kütikül üzerinde yer alan ince bant şeklindeki enine çizgiler vücudun tamamında görülür (Şekil 2A). Anterior terminalde yer alan ağız, diş ve benzeri donanımları olmayan üç dudak ile çevrelenmiştir (Şekil 2B).

Ösafagusun bitiş seviyesinden başlayan sekum, dallanma göstermeden düz boru şeklinde posteriora doğru uzanmaktadır. Aynı eşeyli özellikteki bu türün erkek ve dişi bireylerine ait karakterler şu şekildedir:

Erkek birey: Vücut 3,680-5,620 (3,970) mm boyunda ve 324-436 (342) μ m eninde ölçülmüştür. Vücudun anterior terminalinde yer alan ağızı ösafagus takip etmektedir. Ösafagus kasımsı ve kasımsı olmayan

(stikhosom) olmak üzere iki kısımdan meydana gelmektedir. Kası ösafagus 145-278 (213) μ m boyunda tanımlanmıştır. Bu kısım üzerinde yer alan sinir halkasının anterior uç kısmı olan uzaklığı 56-72 (63) μ m olarak kaydedilmiştir. Ösafagusun stikhosom kısmı ise, tek tabakalı stikhosit hücrelerden meydana gelmektedir. Posterior uçta yer alan kuyruk kısa ve küt şekillidir. Kuyruğun lateral taraflarında 17 çift preanal ve 4 çift postanal papilla vardır (Şekil 2C). Kuyruğun subterminal bölgesinde ventrale doğru kıvrılma gösteren bir çift spikül vardır. Kitinsi yapıdaki bu spiküllerin yüzeyi pürüzsüzdür. Spiküller saydam bir kın tarafından baştan sona kuşatılmaktadır.

Dişi birey: Vücut boyu 5,213-8,932 (6,468) mm, eni 415-571 (532) μ m olarak bulunmuştur. Ösafagus'un stikhosom bölümü 2,6-4,3 (3,2) mm, kasımsı özellikteki kısmı 214-262 (236) μ m uzunluğunda olup, bu bölümün üzerinde yer alan sinir halkasının anterior uca olan uzaklığı 58-73 (73) μ m olarak ölçülmüştür. Dişi bireylerde vücudun posterior kısmı konik şekillidir (Şekil 2A). Vulva genellikle ösafagusun bitiş seviyesinin biraz gerisinden dışarı açılmaktadır. Ovaryum ile vulva arasındaki kısmı dolduran uterus çok sayıda yumurtayı tek sıra halinde taşımaktadır.



Şekil 2. A: *R. acus* kütikülünde enine bant yapısı. **B:** *R. acus*'ta anterior kısım. **C:** Erkek *R. acus*'ta spikül ve preanal papilli yapıları (orijinal)

Figure 2. A: Transverse band structure in *R. acus* cuticle. **B:** Anterior part of *R. acus*. **C:** Spicula and preanal papillae structures in male *R. acus* (original)

Acanthocephalus luci'nin (Müller 1776) morfolojik ve anatomik özellikleri

Vücut, kancalı başlı hortum ile ön tarafı genişlemiş silindirik şekilli gövde olmak üzere iki kısımdan meydana gelmektedir (Şekil 3A). Proboscis olarak tanımlanan başlı hortum, vücudun anterioründe

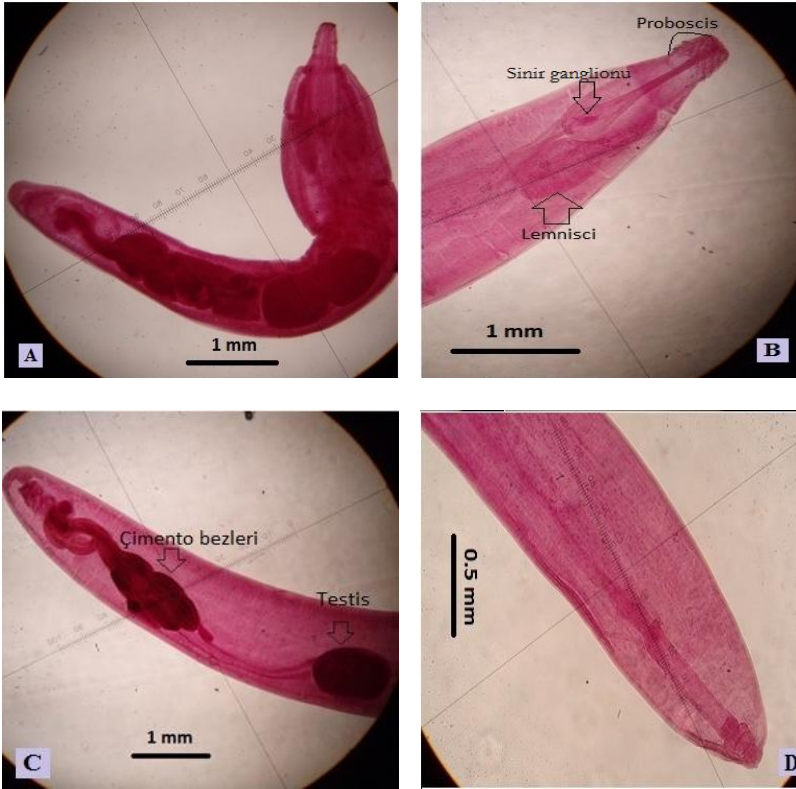
ampulsü şeklindedir (Şekil 3B). Bu yapının üzeri kancalarla dolu olup, her sırada 7-8 adet olmak üzere 12 sıra halinde yerleşim göstermektedirler. Kancalar anteriörden itibaren belirgin bir büyüme göstererek orta kısımda maksimum boya erişirler. Bu bölümdeki kancaların bazal kısımları yassı ve genişlemiş olmakla birlikte lateral taraflarında yumrumsu çıkıntılar

yoktur. Daha sonra kancalar posteriöre doğru küçülür ve son iki sırada kök yapılarından yoksun basit yapıya dönüşürler. Dioik özellikteki bu türün erkek ve dişi bireylerine ait morfometrik karakterleri aşağıda tanımlanmıştır:

Erkek bireyler 4,2-4,5 mm boyunda 0,7-1,2 mm eninde ölçülmüştür. Proboscis 52-68 µm boyunda ve 23-37 µm enindedir. Birinci ve ikinci kancanın sivri uçlu gövde kısmı 47-132 µm, kök kısmı 51-63 µm olarak kaydedilmiştir. 7-8 kancaların sivri uçlu gövde kısmı 45-63 µm, 9 kancanın ise 21 µm dir. Boyun kısa olup, 300 µm uzunluğundadır. Başsı hortumun hareketinde rol oynayan ve 1,12 mm boyunda olan lemniski keseleri ince cidarlı olup, posteriöre doğru genişlemiştir. Proboscis kesesinin posterior ucunda ganglion yapısı yer almaktadır (Şekil 3B). Bu kesenin

boyu 1,12-1,23 mm, eni 34 µm olarak bulunmuştur. Vücudun 2/3 kısmında yer alan 0,93-1,20 mm boyunda ve 52-68 µm eninde olan testisler ardaşık ve oval şekillidir. 6 adet yuvarlak armut şekilli çimento bezi 2'şerli çift halindedir (Şekil 3C).

Dişi bireyler 7-19 mm boyunda ve 1,3-1,5 mm eninde ölçülmüştür (Şekil 3D). Proboscis 82-86 µm boyunda ve 34 µm eninde kaydedilmiştir. Kancalar erkek bireylerde olduğu gibidir, fakat kancalar daha büyüktür. Birinci ve ikinci kancanın sivri uçlu gövde kısmı 72-110 µm olarak ölçülmüştür. Proboscis üzerinde 3-8 sıradaki 7 kancanın sivri uçlu gövde kısmı boyu 95-134 µm, sekiz ve dokuzuncu kancanın boyu yaklaşık 0,045-1,12 mm olarak kaydedilmiştir.



Şekil 3. A: *Acanthocephalus lucii*'de genel görünüm. **B:** *A. lucii*'de proboscis ve lemnisci keseleri. **C:** *A. lucii*'de testis ve çimento bezleri. **D:** *A. lucii*'de dişi bireyin posteriörü (orijinal)

Figure 3. A: Overview of *Acanthocephalus lucii*. **B:** Proboscis and lemnisci sac in *A. lucii*. **C:** Testis and cement glands in *A. lucii*. **D:** Posterior part of female in *A. lucii* (original)

Balıklarda Paraziter Enfeksiyon Durumu

Her iki parazit türün enfeksiyon yaygınlığı, ortalama parazit yoğunluğu ve bir balıkta kaydedilen minimum ve maksimum parazit sayıları Tablo 1'de sunulmuştur. Bu kapsamda sözü edilen enfeksiyon değerleri bakımından *R. acus*'un daha yaygın bir tür olduğu görülmektedir.

Tablo 1. *Esox lucius*'un parazit enfeksiyon değerleri. N: parazitli balık sayısı, (%): enfeksiyon yaygınlığı, M-M: minimum-maksimum parazit sayısı, $X \pm S.D.$: ortalama parazit sayısı ve standart sapma.

Table 1. The parasitic infection values of *Esox lucius*. N: number of parasitic fish, (%): infection prevalence, M-M: minimum-maximum parasite number, $X \pm S.D.$: mean parasite number and standard deviation.

Parazit tür	N & (%)	M-M & ($X \pm S.D.$)
<i>Acanthocephalus lucii</i>	11 (10,9)	1-3 (1,4±0,7)
<i>Raphidascaris acus</i>	19 (18,8)	1-17 (2,9±3,8)

Mevsimplere göre Parazitik Bulgular

Parazitlere ait enfeksiyon değerleri; balıkların yakalandıkları mevsimler ile ilişkilendirilerek değerlendirilmiştir. Bu kapsamda çalışma süreci mevsimler temelinde ilkbahar, yaz, sonbahar ve kış olmak üzere 4 döneme ayrılmıştır (Tablo 2). Yapılan değerlendirmeye göre, *A. lucii* ilkbahar ve kış mevsimlerinde, *R. acuis* ise yaz dönemi hariç diğer mevsimlerde varlığını göstermiştir. Her iki parazit türüne ait enfeksiyon değerleri suyun soğuk olduğu kış mevsiminde, diğer mevsimlere göre daha yüksek orandadır.

Tablo 2. *Esox lucius*'daki parazit enfeksiyon değerlerinin mevsimlere göre dağılımı. N: parazitli balık sayısı, (%): enfeksiyon yaygınlığı, M-M: minimum-maksimum parazit sayısı, X±S.D: ortalama parazit sayısı ve standart sapma.

Table 2. Distribution of infection value of the parasites from *Esox lucius* according to seasons. N: number of parasitic fish, (%): infection prevalence, M-M: minimum-maximum parasite number, X ± S.D: mean parasite number and standard deviation

Mevsimler	İncelenen Balık Sayısı	Enfeksiyon Verileri	<i>A. lucii</i>	<i>R. acuis</i>
İlkbahar	26	N ve (%)	3 (11,5)	12 (46,1)
		X±S.D.	1,0±0,0	2,6±2,1
		M-M	1-1	1-6
Yaz	22	N ve (%)	-	-
		X±S.D.	-	-
		M-M	-	-
Sonbahar	29	N ve (%)	-	2 (6,9)
		X±S.D.	-	1,0±0,0
		M-M	-	1-1
Kış	24	N ve (%)	8 (33,3)	5 (20,8)
		X±S.D.	1,6±0,7	4,2±7,1
		M-M	1-3	1-17

Balık Yaş Gruplarına göre Parazitik Bulgular

Acanthocephalus lucii'nin yaygınlığı, balıkların yaşları ile doğru orantılı artış göstererek en büyük yaş grubundaki balıklarda en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Ancak *A. lucii*'ye ait parazit yoğunluğu küçük yaş grubundaki balıklarda büyük yaş gruplarına göre daha yüksek değerdedir. *Raphidascaris acuis*'un yaygınlığı en

büyük ve en küçük yaş grubundaki balıklarda daha yüksek iken, ortalama parazit yaygınlığı III yaş grubundaki balıklarda tespit edilmiştir. Bununla birlikte bir balıkta rastlanan maksimum parazit sayısı ise en büyük yaş grubundaki balıklarda bulunmuştur (Tablo 3).

Tablo 3. *Esox lucius*'daki parazit enfeksiyon değerlerinin konak yaş gruplarına göre dağılımı. N: parazitli balık sayısı, (%): enfeksiyon yaygınlığı, M-M: minimum-maksimum parazit sayısı, X±S.D: ortalama parazit sayısı ve standart sapma

Table 3. Distribution of infection value of the parasites from *Esox lucius* according to the host fish age. N: number of parasitic fish, (%): infection prevalence, M-M: minimum-maximum parasite number, X ± S.D: mean parasite number and standard deviation

Balık Yaş Grupları	İncelenen Balık Sayısı	Enfeksiyon Verileri	<i>A. lucii</i>	<i>R. acuis</i>
II	44	N ve (%)	3 (6,8)	9 (20,4)
		X±S.D.	1,7±0,6	2,1±1,4
		M-M	1-2	1-4
III	51	N ve (%)	7 (13,7)	7 (13,7)
		X±S.D.	1,4±0,8	2,4±2,3
		M-M	1-3	1-6
IV	6	N ve (%)	1 (20,0)	3 (50,0)
		X±S.D.	1,0±0,0	1,0±16,3
		M-M	1-1	1-17

Balık Eşey Gruplarına Göre Parazitik Bulgular

Parazit türlerine ait enfeksiyon değerlerinin balık eşey gruplarına göre dağılımı Tablo 4'te verilmiştir. Elde edilen bulgulara göre, her iki parazit türünün yaygınlığı dişi balıklarda daha yüksektir.

Buna karşın *R. acuis* türlerine ait ortalama parazit yoğunluğu erkek balıklarda, *A. lucii*'ye ait ortalama parazit yoğunluğu dişi balıklarda daha fazla bulunmuştur. Ayrıca *A. lucii* türüne ait maksimum parazit sayısına dişi balıklarda, *R. acuis* türünde ise erkek balıklarda rastlanmıştır.

TARTIŞMA

Karamık Gölü'ndeki turna balığının büyüme ve beslenme biyolojisi üzerine Balık ve ark. (2006) ile

Çubuk ve ark.'nın (2006) çalışmaları olmasına karşın, bu güne kadar gerçekleştirilmiş parazitolojik bir araştırmaya rastlanılmamıştır. Bu doğrultuda mevcut araştırma ile bulunan iki parazit türü Karamık Gölü turna balıkları için ilk bildirimdir.

Bychovskaja-Pavlovskaja ve ark.'na (1962) göre tipik bir turna balığı paraziti olan *A. lucii*, diğer birçok tatlısu balığında da yaygın olarak bulunmaktadır (Moravec and Scholz, 1991). Öztürk (2015) bu paraziti Eber Gölü'ndeki turna balıklarında düşük yoğunlukta belirlemiştir. Araştırmamızda da söz konusu parazite ait enfeksiyon değerleri düşük düzeylerde dir.

Raphidascaris acus'un da tipik bir turna balığı paraziti olduğu ve Avrupa, Rusya ve Kuzey Amerika'da yaygın olduğu bilinmektedir (Smith 1984). Bu parazit aynı zamanda Cyprinidae familyasındaki bazı balıkların bağırsak çeperi, vücut boşluğu, mesenter gibi organlarında kistik larval halde bulunabilmektedir (Valtonen *et al.* 1994, Chubb 1980, Fagerholm 1982). Söz konusu parazitin yaygınlığı, Öztürk ve ark.'nın (2002) gerçekleştirdiği Karacabey Lagünü'ndeki turna balıklarında (%15,7) ve araştırmamızda (%18,8) düşük değerlerde belirlenmiş ancak yine Öztürk ve ark.'nın (2000) bir diğer lokalitedeki turna balıklarında yüksek değerlikte (%96,2) olduğu bildirilmiştir.

Khan ve Thulin (1991), balıklarda yaşayan parazit canlıların çeşitliliği ile ortamın sıcaklık, pH, vb. abiyotik faktörleri arasında direkt bir etkileşimin olduğunu ifade etmektedir. Öztürk (2015) tarafından Eber Gölü'ndeki turna balıklarında kaydedilen *A. lucii* enfeksiyonu, su sıcaklığının düşük olduğu kış ve ilkbaharda, diğer mevsimlere göre daha yüksek değerlikte tespit edilmiştir. Mevcut çalışma alanındaki turna balıkları için de benzer veriler elde edilmiştir.

Öztürk ve ark. (2000) tarafından tüm mevsimlerde *R. acus* bulunmasına karşın, ilkbahar ve sonbahardaki enfeksiyon, diğer mevsimlere göre daha yüksek oranlarda belirlenmiştir. Kır ve Tekin-Ozan (2005), en yüksek *R. acus* enfeksiyonunu ilkbaharda bulmuştur. Buna karşın Valtonen ve ark. (1994) *R. acus* enfeksiyonunu sonbaharda daha yüksek oranda bulmuştur. Öztürk ve ark. (2002), *R. acus*'u su sıcaklığının düşük olduğu ilkbaharda tespit etmiş olup, su sıcaklığının arttığı yaz aylarında hiç rastlanmadığını bildirmektedir. Benzer sonuçlar kaydeden Supriaga ve Mozgovoij (1974), *R. acus* enfeksiyon yoğunluğunun yaz aylarında düşük, ilkbahar ve sonbahar aylarında ise kayda değer bir artış gösterdiğini ifade etmektedir. Bu çalışmayla da *R. acus* enfeksiyon yaygınlığının en yüksek seviyeye ilkbaharda çıkması, enfeksiyon yoğunluğunun en yüksek seviyeye kış döneminde ulaşması ve yaz

döneminde enfeksiyon olgusuna rastlanmaması ile bu görüşleri destekleyen sonuçlara ulaşılmıştır.

Parazit enfeksiyon değerleri balıkların boy veya yaş büyüklüğüne göre farklılık gösterebilmektedir. Bu olgu balığın beslenme çeşitliliğine, ortamdaki ara konak varlığına veya yaşam ortamının biyotik, abiyotik ve diğer limnolojik özellikleriyle ilişkilendirilmektedir (Moravec and Scholz 1991, Pojmańska 1994). Mevcut çalışma sonuçları, bu görüşleri destekler nitelikte olup, *R. acus* türlerine ait enfeksiyon yaygınlığı en büyük boy balıklarda, ortalama parazit sayısı ise orta boy grubundaki balıklarda en yüksek seviyeye ulaşmıştır. *Acanthocephalus lucii*'ye ait enfeksiyon yaygınlığı ise balık büyüklüğü ile doğru orantılı olacak şekilde artış göstermiştir.

Balık beslenme biyolojisi üzerine bilgi veren Geldiay ve Balık (1999), fingerlik dönemindeki turna balıklarının fitoplanktonlarla; genç evrede böcek, crustacea ve copepod gibi zooplanktonik canlılarla; predatör özellik kazandıkları yetişkin dönemde ise, balıklarla beslendiğini belirtmektedir. Tieri ve ark. (2006), konak balığın farklı boy gruplarında farklı yoğunlukta parazit bulunmasını balığın besin diyeti ile ilgili olduğunu vurgulamaktadır. Mevcut çalışma alanındaki turna balıkları, aldıkları besin diyetlerine bağlı olarak farklı yaş gruplarında farklı değerlikte parazitik enfeksiyonlara yakalanmaları, bu yöndeki görüşleri destekler niteliktedir (Moravec and Scholz 1991, Pojmańska 1994, Öztürk *et al.* 2000, Kır and Tekin-Ozan 2005, Tieri *et al.* 2006).

Bu çalışma kapsamında tanımlanan her iki parazit türünün enfeksiyon yaygınlığı dişi balıklarda daha yüksek bulunmuştur. Kennedy (1972), aynı balık türünün dişilerinde parazit enfeksiyon değerlerinin daha yüksek olmasını; balığın hormon dengesinin değişmesine, yumurtlama alanlarına gitme nedeniyle meydana gelen yer değişikliğine, aşırı stres altında olmasına, yumurta dökmek için zamanının büyük kısmını ortamın zemin kısmında geçirmesine ve bu sürede bentik dip faunasında yer alan enfekte *Tubifex* vb. ara konaklarla beslenmesine bağlamaktadır.

SONUÇ

Sonuç olarak, bu güne kadar herhangi bir parazitolojik araştırma yapılmayan Karamık Gölü turna balıklarının endoparazit faunası üzerinde incelemeler yapılmış ve 2 parazitik helmint tür belirlenmiştir. Söz konusu parazit türleri Karamık Gölü için ilk bildirim olma özelliği taşımaktadır. Böylece sözü edilen parazit türlerinin coğrafik yayılışına yeni bir lokalite ilave edilmiştir. Ayrıca ilerleyen yıllarda, turna balığının Karamık Gölü'nde

yetiştiriciliğinin yapılması halinde; hangi mevsim, yaş ve eşey grubunda hangi parazit türleri tarafından tehdit edildiği şimdiden tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

- Balık İ, Çubuk H, Özkök R, Uysal R.** Reproduction properties of pike (*Esox lucius* L., 1758) population in Lake Karamık (Afyonkarahisar/Turkey). Turk J Zool. 2006; 30: 27-34.
- Bush AO, Lafferty KD, Lotz JM, Shostak AW.** Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. J Parasitol. 1997; 83(4): 575-583.
- Bychovskaja-Pavlovskaja IE, Gusev AV, Dibinina MV, Izjumowa NA, Smirnova TS, Sokolovskaja IL, Štein GA, Šulman SS, Epstein UM.** Key to parasites of freshwater fishes of the USSR. Publ. House of the USSR Acad. Sci. Moscow, Leningrad, 1962.
- Chubb JC.** (1980). Seasonal occurrence of helminths in freshwater fishes. Part. III. Larval Cestoda and Nematoda. Adv Parasitol. 1980; 18: 1-120.
- Çubuk H, Balık İ, Özkök R, Uysal R.** Karamık Gölü'ndeki (Afyonkarahisar/Türkiye) turna balıklarının (*Esox lucius* L., 1758) beslenmesi. I. Balıklandırma ve Rezarvuvar Yönetimi Sempozyumu, Antalya, 7-9 Şubat, 141-149, 2006.
- Fagerholm HP.** Parasites of fish in Finland. VI. Nematodes. Acta Academia Aboensis Series B, 1982; 40: 1-128.
- Geldiay R, Balık S.** Türkiye Tatlı Su Balıkları, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları No: 46, III. Baskı, İzmir, 1999.
- Kazancı N, Girgin S, Dügel M, Oğuzkurt D, Mutlu B, Dere Ş, Barlas M, Özçelik M.** Köyceğiz Beyşehir Eğirdir Akşehir Eber Çorak Kovada Yarışlı Bafa Salda Karataş Çavuşçu Gölleri Küçük ve Büyük Menderes Deltası Güllük Sazlığı Karamuk Bataklığı'nın Limnolojisi Çevre Kalitesi ve Biyolojik Çeşitliliği. Türkiye İç Suları Araştırmaları Dizisi: IV, Form Ofset, Ankara, 1999.
- Kennedy CR.** Parasite Communities of Freshwater Ecosystems. In: R.B. Clarke, R.J. Wootton (Eds.), Essays in Hydrobiology. University of Exeter Press, Exeter, 1972; 53-68.
- Kır İ, Tekin-Özan S.** (2005). Işıklı Baraj Gölü (Denizli)'nde yaşayan turna balığı (*Esox lucius* L., 1758)'nin endoparazitleri, mevsimsel dağılımları ve etkileri. Türkiye Parazitolojisi Derg. 2005; 29(4): 291-294.
- Khan RA, Thulin J.** Influence of pollution on parasites of aquatic animals. Adv Parasitol. 1991; 30: 201-238.
- Moravec F, Scholz T.** Occurrence of endohelminths in chub, *Leuciscus cephalus*, of The Rokytná River, Czechoslovakia. Acta Societe Zool Bohemoslov. 1991; 55: 12-28.
- Mouritsen KN, Poulin R.** Parasitism community structure and biodiversity in intertidal ecosystems. Parasitology. 2002; 124: 101-117.
- Öztürk MO, Oguz MC, Altunel FN.** Metazoan parasites of pike (*Esox lucius* L.) from Lake Ulubat, Turkey. Israel J Zool. 2000; 46(2): 119-130.
- Öztürk MO, Aydoğdu A, Oguz MC.** Bayramdere Dalıyanındaki turna (*Esox lucius* L.) ve kızılkanat balıkları (*Scardinius erythrophthalmus* L.)'nin metazoan parazit faunası üzerine bir araştırma. Türkiye Parazitolojisi Derg. 2002; 26: 325-328.
- Öztürk MO.** Endohelminth fauna linked to seasonal changes and host fish size of pike (*Esox lucius* L.) from Lake Eber, Turkey. Pakistan J Zool. 2015; 47(3): 861-863.
- Pritchard MH, Kruse GOW.** The collection and preservation of animal parasites University Nebraska Press, Lincoln, U.S.A. Pojmańska, T. (1994). Infection of common carp, and three introduced herbivorous fish from Żabieniec fish farm, in relation to their sizes. Acta Parasitol. 1982; 39: 16-24.
- Smith JD.** Taxonomy of *Raphidascaris* spp. (Nematoda, Anisakidae) of fishes, with a redescription of *R. acus* (Bloch, 1772). Can J Zool. 1984; 62: 685-694.
- Supriaga VG, Mozgovej AA.** Biological peculiarities of *Raphidascaris acus* (Anisakidae) a parasite of freshwater fish. Parasitologiya. 1974; 8: 494-503.
- Tieri E, Mariniello L, Ortis M, Berti M, Battistini ML.** Endoparasites of chub (*Leuciscus cephalus*) in two rivers of the Abruzzo

region of Italy. *Veterinaria Italiana*. 2006; 42 (3): 271-279.

Valtonen ET, Haaparanta A, Hoffmann RW.

Occurrence and histological response of *R. acus* (Nematoda: Ascaridoidea) in roach from four lakes differing in water quality. *Int J Parasitol*. 1994; 24(2): 197-206.

Wassell P, Bonwick G, Smith CJ, Almiron-Roig E, Young NVG. (2010). Towards a

multidisciplinary approach to structuring in reduced saturated fat-based systems—a review. *Int J Food Science & Technology*. 2010; 45: 642–655.

21. Yüzyılda Hekimlik Eğitimi: Sanal Gerçeklik, Artırılmış Gerçeklik, Hologram

Recep ASLAN^{1*}, Saffet ERDOĞAN²

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, AFYONKARAHİSAR

²Harran Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Harita Mühendisliği Bölümü ŞANLIURFA

*Corresponding author e-mail: raslan@aku.edu.tr

ÖZ

Hekimlik eğitiminde hedef, bilgi ve becerileri en güncel veri ve tekniklerle en yüksek başarı oranı ile aktarmak, bunu gösterir çıktılarını almak ve bütün bunları sürdürülebilir hale getirmektir. Bu amaçla, gelişmiş ve uygulanabilir eğitim teknikleri öğrenme araçları arasına katılmaktadır. Tecrübe gerektiren tüm alanlarda olduğu gibi hekimlik eğitiminde de; ön görülen 2000 Mbps hızlı internet erişimi, uzaktan algılama teknikleri, holografik görüntü teknikleri ve özellikle sanal gerçeklik gibi kavramların farkında olunması ve bunların sınıf, laboratuvar ve uygulama alanlarına yansıtılması günümüzde çok önemli bir gereksinim olarak karşımıza çıkmaktadır. Uluslararası rekabette önemli bir ekonomik sektör olan lisans ve lisansüstü eğitimde kalite belirteçleri sürekli değişmekte ve referans faktörleri olarak belirleyici olmaktadır. Değişenin sadece teknik imkânlar olmadığı, insan kaynağının da değiştiği hesaplara dâhil edilmelidir. Tüm dünyada, öğrenme ve eğitim alma aşamasındaki insan kaynağı ağırlıklı olarak Y ve Z kuşaklarıdır. Bu sosyal grupların özellikleri göz önüne alındığında, etkili ve verimli lisans/lisansüstü eğitimde sanal gerçeklik temelli ürün ve modellerin yer aldığı donanım ve tekniklerin yaygın kullanımı zorunludur. Bu teknikleri içeren ürünleri günlük yaşantısında kullanan bireyler için; sayfalarca metin ile anlatılan bir konunun öğrenilmesi, kısa bir video veya sanal gerçeklik ekipmanlarıyla çok daha ilgi çekici, akılda kalıcı ve hızlı olabilecektir. Hekimlikte bir konuyu tam öğrenmek için o konuyla ilgili pratik ve uygulamalar, konunun akılda kalmasını, daha iyi öğrenilmesini sağlar. Tıp, veteriner hekimliği ve sağlık disiplinleri eğitiminde tüm öğrencilere yeteri kadar pratik yaptırma imkânı sunulmuyor olması önemli bir sorundur. Sanal gerçeklik, artırılmış gerçeklik ve hologram teknikleri bunları da ortadan kaldıracak etkin bir araç olarak karşımıza çıkmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Artırılmış gerçeklik, Hekimlik eğitimi, Holografik görüntü teknikleri, Sanal gerçeklik, Y ve Z kuşağı.

Medical Education in the 21st Century: Virtual Reality, Augmented Reality and Hologram

ABSTRACT

In medical education, the goal is to transfer knowledge and skills with the latest data and techniques with the highest success rate, to take out the outputs. For this purpose, advanced and applicable educational techniques are included as learning tools. Experience is required in all fields as well as in medical education; Today, it is a very important necessity to be aware of the concepts such as the predicted 2000 Mbps fast internet access, remote sensing techniques, holographic imaging techniques and especially virtual reality, and to reflect them in the classroom, laboratory and application fields. Quality indicators in the undergraduate and postgraduate education, which are internationally important economic sectors, are constantly changing and determining as reference factors. The change should be included only in accounts where the source of the change is not technical facilities. All over the world, the human resource during the learning and training phase is predominantly the Y and Z generations. The characteristics of these groups, the widespread use of techniques involving virtual reality-based products. For individuals who use products containing these techniques in daily life; learning a page with a textual description can be much more engaging, memorable and fast with a short video or virtual reality equipment. It is an important question that the possibility of practicing all students in medicine, veterinary medicine and health discipline training is not available. Virtual reality, augmented reality emerges and hologram as an effective tool to remove them.

Key Words: Augmented reality, Medicine education, Holographic imaging techniques, Virtual reality, Y and Z generations.

To cite this article: Aslan R. Erdoğan S. 21. Yüzyılda Hekimlik Eğitimi: Sanal Gerçeklik, Artırılmış Gerçeklik, Hologram. Kocatepe Vet J. (2017) 10(3): 204-212.

GİRİŞ

Günümüzde sanal ve artırılmış gerçeklik ortam ve imkânlarından yararlanmanın okuryazarlık çizgisi kabul edileceği bir bakışa doğru ilerlemekteyiz. Günlük yaşantının bir parçası haline gelen ve bir ileri adımı olan hologram teknikleriyle de gündeme oturan sanal gerçeklik (SG) ve artırılmış gerçeklik (AG) kavramı, her alandaki hekimlik eğitim ve uygulamaları için de olmazsa olmaz bir araç olarak eğitimci ve akademisyenlerin ilgi alanına girmektedir. Tekniğin öne çıkan özellikleri arasında; sanal objeler ile daha gerçekçi bir ortam oluşturarak, bu ortamı gerçek zeminde sunma, öğrenmeyi kolaylaştırma, Y ve Z kuşakları için cazip bir eğitim ortamı oluşturma, sürekli ve kolay ulaşılabilirliği gibi nedenler sayılabilir (Etlican 2012, Somyürek 2014, Şahin 2016). Sosyologlar mevcut kuşakları iletişim araçları ile etkileşimliliğine göre X, Y, Z diye tasnif etmektedir. 1961-1980 yılları arasında doğan X kuşağı, ekonominin düşüşe geçtiği ve bambaşka değerler sisteminin inşa edildiği bir dönemi temsil eder. Teknoloji yetileri genel olarak e-posta takibi, online arama gibi becerilerle sınırlıdır. İletişim becerileri ve network geliştirme konusunda donanımlıdır, bu nedenle iş bulma konusunda zorlanmazlar. Önceki kuşaklara göre daha çok sorgulama eğilimindedirler. Aile odaklı, kendine güvenli, açık fikirli ve eğlenmeyi seven yapıdadırlar. X kuşağı kendilerini geliştirmeye ve çalıştıkları organizasyonda kültürel ve küresel değerler olmasına önem verir. 1980-2000 yılları arasının kuşağı Y olarak tanımlanmıştır. Bunlar terör, doğal afetler, obezite, AIDS gibi küresel risklerin etkili olduğu dönemde yetişmişlerdir. Ayrıca bu dönem, ekonomik siyasi ve teknolojik devrimin çok hızlı olduğu bir zaman aralığıdır. Y kuşağı genellikle hızlı, çok yönlü ve yoğun bir yaşam tarzına sahiptir. Beklentilerini karşılayacak hız, ekip çalışması ve çok yönlü işler yoksa çabuk sıkılmaktadırlar. Okullarda önceki kuşaklara göre daha çok zaman geçiren, daha iyi eğitim alabilmek için ailesinin yaşadığı yerden farklı yerlere eğitim almak için giden, evde tek başına daha fazla zaman geçiren bireylerdir. Önceki kuşaklara göre küçük yaşlarda kendi kararlarını vermek, bir takım işlerini kendileri yapmak zorunda kalmışlardır (Etlican 2012). Günümüz genç popülasyonunu oluşturan Z kuşağı dijital çağda doğan ve büyüyen nesil olup kanaatkar ve temkinli X ve Y kuşaklarının aksine hıza, tüketmeye ve iletişim için interneti tercih etmeye yönelik jenerasyondur. Bu yeni neslin dominant dijital koşullarda doğmuş, büyümüş olması onları önceki nesillerden farklı olarak dijital bilgi ve becerilere ekstra bir eğitime gerek kalmaksızın yatkın kılmaktadır. Bu yüzden Z nesli için internet teknolojileri ve dijital donanımlar yaşamın olmazsa olmaz bir parçasıdır. Onlara bu nedenle geleneksel öğrenme yöntem ve ortamları cazip gelmemektedir. Z kuşağının dikkatini çekmek için, geleneksel tekniklere göre olan avantajları ve

eğitimi farklılaştırmaya ve zenginleştirmeye yönelik etkili ortam sağlaması açısından artırılmış gerçeklik kavramı ve buna bağlı teknikler ön plana çıkmaktadır (Karahisar 2013, Somyürek 2014). Hekimlik eğitim ve uygulamalarında da yeni teknoloji kullanımı, özel önem ve öncelik gerektirmektedir. Öğrenme işine katılan duyu organlarının sayısı ne kadar fazla olursa o kadar iyi öğrenilir ve öğrenme o düzeyde kalıcı olur yaklaşımı her alanda kabul görmektedir. Öğrenime katılacak duyu organlarının sayısını artırmak etkili öğrenmede oldukça önemlidir (İnan 2006). Sanal gerçeklik ve artırılmış gerçeklik, öğrenme işine katılan duyu organı sayısını, bireyin kendini o ortamda hissetmesi nedeniyle, doğrudan etkilemektedir. Bu tekniklerin olası kıldığı imkânların öneminin konuşulduğu dönemin geride kaldığı, hologram ürünlerinden yararlanım süreçlerinin başladığı göz önünde tutulduğunda, sanal gerçekliğe dayalı uygulamaların ülkemizde yetersiz olduğunu söyleyebiliriz (Kayabaşı 2005, Sarıkoç, 2016). Eğitim öğretim ve pratik uygulamalarda modellemelerin sanal ve artırılmış gerçeklik üzerine oturması, akademik eğitimin bu teknolojilerden yararlanmasını zorunlu kılmaktadır (Küçük ve ark. 2015). Tıp, diş, veteriner hekimliği gibi tıbbi disiplinlerin eğitim ve uygulamalarını global rekabete açık hale getirmek için sanal gerçeklik çıktılarını karşı farkındalığı artırmak zorundayız. Ders, uygulama ve deneylerde kişinin yaşadığı ortamla bağını tamamen kesen, kendisini ana karakterle özdeşleştirmesini sağlayan, sanal bir kurgu olan ortamı yaşıyormuş hissettiren, konsantrasyonu artıran bir tekniğe duyarsız kalmak doğru olmaz (Aktan 2007). Savunma, eğitim, sağlık, pazarlama, yönetim başta olmak üzere tüm sektörlerde sanal gerçeklik üzerine oturtulmuş ürünlerin yoğun kullanımı süreci başlamış olup; uzmanlık ve tecrübe için uyum gerektiren zorlu mesleki ortamlara adaptasyon, bir hastanın fobileriyle yüzleşmesi, anne karnındaki bir fetusu detaylarıyla inceleyebilmeyi deney hayvanı kullanmaksızın uygulama ve deney yapabilmeyi dijital ortamda sağlayan bu teknoloji, her alanda gerçekliği artırılmış sanal ortamlar oluşturarak eğitim ve yaşantı tarzını önemli ölçüde değiştirmeye başlamıştır. Böylece seyretmek istediğiniz bir operasyonu, bir deney uygulamasına ait görüntüleri, bir dersin anlatımını gerçek zamanlı olarak ön sırada ve ekrandan biri gibi 360 dereceyle izleyebilir, artırılmış gerçeklik ortamına katılabilirsiniz. Bir tıbbi ekipmanı elinizle inceliyor gibi, bir tıp merkezinin içinde geziyor gibi ziyaret ve tecrübe süreçlerini yaşayabilirsiniz (Bayraktar ve Kaleli 2007). Sanal gerçeklik ürünlerinin, çok yakında 2000 Mbps hıza ulaşacağı öngörülen internet, yapay zekâ ve sinir ağlarıyla entegrasyonu ile 7/24 eğitimin nasıl cazip hale geleceği anlaşıldığında, bu tekniğin her alandaki eğitim yöntemini tamamen değiştirecek potansiyele sahip olduğu öngörülebilir (Aktan 2007, Türker 2005). Biyolojik yapılarımız ve sinir sistemimizle irtibat kurabilecek bu donanımlar; nöronların

internet ağıyla doğrudan iletişim kurmasını, bu yolla ileti ve veri paylaşımını, dokularımızı holografik görüntü amaçlı kullanabilmemizi; söz gelimi, başparmak tırnağını monitor gibi kullanabilmeyi mümkün kılabilir. Beyne yerleştirilmiş çiplerin protez cihazları düşünce gücüyle hareket ettirdiklerini yıllardır biliyor, cohea, retina, optik sinir, optik traktus gibi ortamlar üzerinden implant tekniklerine muhatap oluyoruz (Mudun 2001). Daha ileri uygulamalarda, serebral merkezler ve nöronlar bilgisayar teknolojileri ile entegre edilerek, kurgulanan sanal ortamı gerçekmiş gibi hissedebilmek, sanal bilgilerin dijital ortamlarda yaşatılabilmesi mümkün hale gelebilir, beyin korteksi üzerinden ulaşılan data bir harddiske veya bilgisayar hafızasına yüklenerek nöronlar vasıtasıyla yapay zeka ve dijital ortamlarla iletişim kurabilmesi, duygu ve düşüncelerin konuşma olmaksızın iletebilmesi gibi olguların önü açılabilir. İnsan veya hayvan beyni bilgisayara bağlanarak yapay duygu hissiyatı oluşturulabilir, kurgulanmış sahneler yaşatılabilir, bu duygularla yaşayan beyin dokusal gerçekliğinde mi yoksa bilgisayar ortamının sanallığında mı yaşadığını fark edemeyebilir (Aydoğan 2011). Beş duyu desteği olmadan düşünce aktarımı, sanal dünyalarda hologram tabanlı görüntü oluşturma, organ, doku ve bedenlerin sanal versiyonlarının üretilerek paralel/yedek organ ve doku oluşturulması, bedenimiz dahil algılanan fenomenlerin aslında bir simülasyon olduğunu da gösterir (Henderson 2003). Sanal ve artırılmış gerçeklik ortamlarının özelliklerini çok hızlı güncelliyor olması bütün bunları olası kılmaktadır (Mıdık ve Kartal 2010, Aydoğan 2011). Holografi, Macar fizikçi Dr. Dennis Gabor tarafından 1947 yılında fark edilmiştir. Işık dalga girişimlerinin bir yüzey üzerine kayıt edilmesi temeline dayanan bir tekniktir. Bu bakışla holograma, bir cisimden gelen dalgaya ait bilginin girişim ve faz değerlerinin saklandığı yüzey görüntüsü denilebilir. Üç boyutlu bir görüntünün iki boyutta sunulmasını sağlayan holografi çok yeni bir araştırma konusudur. Uzaydaki bir cisme ait enformasyon genellikle ses veya ışık dalgaları olarak ulaşır. Cisimlerden gelen dalgalardaki bilgiyi belirli bir şekilde depo edip onu bir kayıt olmadan tekrar ortaya çıkarmak hologram tekniği ile yapılabilmektedir. "Holos" Yunancada bütün anlamına gelmektedir. Hologram, bir cisimden ulaşan dalgaya ait enformasyonu, bilgiyi hem genlik hem faz değerleriyle kaydeder; ne zaman istenilirse orijinal dalga bu kayıt ortamından yeniden elde edilir (Dalkıran 2011). Sessiz kuşak, baby bumer ve X ve Y kuşaklarının eğitim süreçlerindeki yeri neredeyse hiç kalmamıştır. Aktif eğitim süreçlerindeki en yoğun kitle Z kuşağıdır. Bu neslin hızlı düşünme yetisini, çok yönlü ve yoğun aktifliklerini tatmin edecek bir teknoloji önemlidir. Onların beklentileriyle uyumlu hızla, ileri teknolojiye, hızlı düşünmeye dayanmayan ortamlarda sıkılmaktadırlar. Olası verimlilik kaybı ve çıktı

kalitesindeki düşüş riskine karşı, eğitim dâhil tüm alanlarda, sanal gerçekliğe dayalı uygulama, teknik ve ürünlerin kullanımı önemli olmaktadır (Etlican 2012).

POSTMODERN EĞİTİM PLATFORMU

Aidiyet duygularının göreceli olarak zayıflayıp, yerini bireyselliğin aldığı günümüzde, sanal gerçeklik ile bire bir muhataplık algısı oluşturma, öğrencinin soru ve müdahale imkânını artırma, çok boyutlu düşünme, bireysel ve etkin görme, tecrübe etme, interaktif süreç, kalıcı bilgi sahibi olma, somutlaştırılması zor bilgilerin deneyimleniyormuş gibi verilmesi, zengin ve kalıcı deneyimler kazanma, karmaşık bilgilerin içinde yer alan sanal ortam sayesinde algılanabilir hale getirilmesi, hayvan veya insan gerektiren deneylerin canlı kullanılmadan uygulanabilmesi gibi birçok özellik kullanılarak öğrenme süreç yönetimi kolaylıkla yönetilebilmektedir (Aktan 2007). Bütün bu avantajları nedeniyle sanal gerçeklik, küresel rekabete açık bir tıp eğitimi ve sektörü için önemli bir kalite kriteri ve tercih sebebidir. Lisans eğitiminde tıp, veteriner hekimlik, mimarlık, mühendislik gibi alanlarda birebir örneklerin bileşenlerine ayrılarak üç boyutlu incelenebilirliğiyle eğitim ve uygulamaların artırılması gerekmektedir (Çavaş ve ark 2004). Sanal gerçeklik ve artırılmış gerçeklik, her ikisi de bireye hedeflenen alanda gerçekçi bir ortam sunmaktadır. Sanal gerçeklik bu ortamı tamamen sanal objelerle oluştururken, artırılmış gerçeklik gerçek zeminde sanal objeler kullanır (Anonim 2015). Birbiriyle karıştırılan bu iki kavramı şöyle ayırabiliriz: Sanal gerçeklik tamamen yazılımla oluşturulmuştur ve sanal ortamda deneyim sağlamaya yöneliktir. Sanal gerçeklik gözlüğü ile kendini üç boyutlu olarak ortamda hisseden bireyin bu deneyimle öğrenmesi hedeflenir. Ortam bilgisayarda simule edilerek oluşturulur (Bayraktar ve Kaleli 2007). Artırılmış gerçeklikte ise; mevcut bir fiziksel ortam üzerinde sanal objelerle yeni bir ortam oluşturularak deneyim yaşatılır. Artırılmış gerçeklik gözlüğü bulunulan ortamın anlık görüntüsü üzerine farklı sanal objeler yerleştirilebilir. Birey bu objeleri gözleyerek onlarla konuşabilir. Bu teknikte; gerçek dünyadaki çevre, dijital ortamda oluşturulan görüntü, ses, grafik ve GPS verileriyle zenginleştirilerek canlı fiziksel görüntü elde edilir (Carmigniani et al 2011). Bütün bu özellikleri nedeniyle, hekimlik eğitiminde kullanılacak kitap ve materyaller, derslik ve laboratuvarlar, sanal gerçeklik ve artırılmış gerçeklik tekniklerinden yararlanılarak oluşturulabilirse, öğrencinin olayı kendi deneyimi olarak algılaması nedeniyle öğrenme kolaylaşacaktır.

TARİHÇE

Sanal gerçeklik 1930'lu yıllara dayanan yaklaşım olup, sanal gerçeklikle ilgili ilk gelişmenin 1939 yılında üretilen View-Master adlı, içine konulan filmleri ışık

yardımla görebilmeyi sağlayan görme simülatörü olduğu söylenebilir (Resim 1) (Sell and Sell 1994).



Resim 1. View Master 1939'dan 2017'ye
Figure 1. View Master from 1939 to 2017

Sanal gerçekliğe giden yolda diğeri bir ürün 1962 yılında Morton Heilig tarafından Sensorama adıyla geliştirilmiştir; bu üründe, izleyicilerin kendilerini sinema veya tiyatro sahnedeki olayların içinde hissedebilmesi amacıyla 3D stereoskopik görüntü, stereo ses sistemi, vücudu sallayan bir aygıt ve koku veren bir düzenek kurgulanmıştır. Görme, işitme, dokunma ve koku duyarları üzerinden bir sanal ortam oluşturulmuş bu makinede film izlenebilmektedir. Sensorama tamamen mekanik bir düzenek olsa da bilgisayarlara giden yolda bir süreç göstergesidir ve halen çalışır durumdadır (Robinet 1994). Thomas A. Furness'in 1966 yılında ülkesinin hava kuvvetleri için geliştirdiği uçuş simülatörü, sanal gerçelik teknolojisinin evrilmesinde bir sonraki adım olarak değerlendirilebilir. Sanal gerçelik ya bir ortam veya bir kask yardımıyla oluşturulmaktadır. Günümüzde kullanılan kaskların ilk örneği ise 1968 yılında Ivan Sutherland tarafından geliştirilmiş, ürkütücü görüntüsü nedeniyle bu kask Demokles'in Kılıcı adıyla anılmış ve günümüzde kullanılan modern sanal gerçelik gözlüklerinin ilham kaynağı olmuştur. MIT Üniversitesi 1978 yılında geliştirdiği bir program ile Colorado eyaleti Aspen şehrine ait oluşturulan sanal görüntü sayesinde, kullanıcılara Aspen şehrinde üç farklı modda dolaşabilme imkanı sağlamıştır. Sega şirketi 1991 yılında Sega VR isimli, LCD ekran, stereo hoparlör ve başın hareketlerini algılayan sensörlere sahip bir ürünle katkı sağlarken, Nintendo tarafından 1995 yılında Virtual Boy geliştirilmiştir. Philip Rosedale 1999 yılında 360 derece görüntülerle ilgili çalışmaları ile sürece destek vermiş, Z-A Production 2001 yılında bilgisayar tabanlı üç boyutlu küp oda ile Google 2007 yılında StreetView uygulaması ile 360 derece gerçek görüntüleriyle ortam algılanmasını sağlamıştır (Resim 2). 2010 yılında Oculus VR ilk Oculus Rift prototipini geliştirmiş; 2014'de Sony PlayStation-4 için bir sanal gerçelik başlığı üretirken, Google akıllı telefonlarla kullanılan, kendin yap tarzı CardBoard'ı paylaşmıştır (Şahin 2016).



Resim 2. 360 derece kameralar
Figure 2. 360 degree cameras

Sanal gerçelik ve artırılmış gerçeliğin ürüne dönüşüp kullanılabilmesi için veri girişi ve yazılım asıl aşamadır. Bu süreç şirketler ve üniversitelerdeki ARGE ekiplerince geliştirilen birçok uygulamayla devam etmektedir. Gyroscope özelliği taşıyan akıllı telefonlarda mobil uygulamalar aracılığı ile sanal gerçelik deneyimi, kendi entegre lenslerine sahip olan sanal gerçelik gözlükleri için süreçteki önemli adımlardandır. (Wang et al 2006). Google tarafından geliştirilen ve gyroskop kullanılmadan işlev gören cardboard adlı teknik, sürecin evrildiğini göstermesi açısından önemlidir. 2017'de ilk kontrol cihazına sahip Gear VR, sanal gerçelik ekosistemini genişleterek Gear VR deneyimlerini daha kolay ve eğlenceli hale getiren bir ürün olarak Samsung lisansı ile üretilmiştir (Resim 3).



Resim 3. Engüncel sanal gerçelik gözlüğü
Figure 3. Postmodern virtual reality case

Sanal gerçelik ortamının algılanmasında Control VR adıyla bilinen bir eldiven işlevine sahip ürün, el ve kol

hareketlerini algılayarak etkileşimde olduğunuz sanal gerçeklik ortamına aktarır. Klavye, fare gibi donanım kullanmadan el hareketleri ile bilgisayarda çalışabilmeyi, çizim yapabilmeyi olası kılmaktadır Virtuix Omni ise sanal ortamda özgürce dolaşmanızı sağlayan ilk sanal gerçeklik aparatıdır. Koşu bandını andıran yapısıyla sanal ortamda yürüyerek veya koşarak 360 derece görüş olanağı ile yönlendirmede bulunmanızı sağlar (Şahin 2016).

KULLANIM ALANLARI

Oyunlar başta olmak üzere eğitim süreçlerinde artık sanal gerçeklik ürünleri karşımıza çıkmaktadır. Yeni nesil ders materyalleri sanal gerçeklik ve artırılmış gerçeklik ile etkileşimli ürünlerden oluşmaktadır. Sanal gerçeklik neredeyse tüm eğitim düzeyleri için uygun imkân, ürün ve donanımlar sunmaktadır. Ders kapsamındaki olay, olgu, mekân, teknik, uygulama ve nesnelere gerçekçi ve üç boyutlu olarak öğrencilere sunularak öğrenme daha cazip, kolay ve kalıcı hale getirilmektedir. Turizm ve sayahat sektörü; hem transferler sırasında geçen zamanı değerlendirmek hem de 360 derece görüntüler ile sanal gezinti sağlayan uygulamalarla müşterilerine hitap etmektedir. Kısa süre içerisinde, internet üzerinden harita, yer ve görüntü sağlayan erişimlerle entegre yazılımlardan yararlanabilmek mümkün olabilecektir. Sanal gerçeklik kullanılarak ev, mobilya, araba, giyim, dekorasyon malzemeleri alış verişini olası hale gelse de henüz müşteriler için ön inceleme amaçlı kullanım yaygın görünmemektedir. İstedığınız kıyafeti bizzat kendi üzerinizdeymiş gibi görmek, almak istediğiniz evi sanal ortamda içindeymiş gibi gezmek, döşemek, düşündüğünüz aracı test etmek, günümüzde bir ardenalin kaynağıdır da. Satın alınan bir modüler ürünün nasıl monte edileceği, montaj aşamaları üç boyutlu görülerek tecrübe edilebilir, bu bir telefonla bile yapılabilir hale gelmektedir. Savunma, eğitim ve tatbikatları, ekipmanların sanal ortamda kullanımı ile gerçeğe çok yakın eğitimler verilebilmektedir. Özellikle pilotluk eğitimi amaçlı simülasyon uygulamaları sanal gerçeklik ortamlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Sanal gerçeklik tekniği katılarak yapılan haberler, haberciliğin ufkunu değiştirecek bir bakış açısı taşımaktadır. Gazeteci Nonny de la Pena, Suriyeli çocukların yaşam ortamları hakkında bir farkındalık oluşturmak üzere gerçekleştirdiği proje ile, gerçek bir haberi 360 derece olarak modelleyerek, sanal gerçeklik gözlüğü ile o anı gerçekmiş gibi izleme imkanı sunmuştur (Anonim 2017). Sağlık ve spor aktiviteleri ile egzersiz, antrenman ve eğitimler, sanal ve artırılmış gerçeklik uygulamaları sayesinde daha performans artırıcı, daha başarılı ve daha bireye özgü hale gelmektedir. Bireysel farklılıklara uygun vücut geliştirme, gerçek ortamda çalışılıyor hissi veren ortamlar, günlük spor aktiviteleri ve elit atletlerin eğitiminde yeni bir imkân olarak karşımıza çıkmaktadır. Giyilebilir teknolojik

ürünlerin artması, sanayi internetinin 2000 Mbps hıza ulaşacağına öngörülmesi, sanal gerçeklik teknolojilerinin gelişim hızını artırmaktadır. Donanım maliyetlerinin gittikçe azalıyor olması, sanal gerçeklik gözlüklerinin daha estetik, ergonomik ve kullanışlı hale gelmesi bu süreci iyice hızlandırmaktadır. Günümüzde, stratejik davranan, gelişmişlik yarışında önde olan ülkelerin sanal gerçeklik teknolojilerine yatırımları öncelikli hale gelmiş ve önemli bütçeler ayrılması normalleşmiştir. Örneğin, sanal gerçeklik pazarındaki en büyük oyuncuların Facebook, iki milyar dolara satın aldığı Oculus firmasının geliştirdiği bilgisayar ile eğlence sektöründe sanal gerçeklik alanında önemli kazanımlar elde etmektedir. Sanal gerçeklik sadece kask ve gözlük değil, yön, hareket, koku duyularını da uygulamalara dâhil ederek hızlı bir evrilme süreci de yaşamaktadır (Somyürek 2014, Şahin 2016).

TIP ALANLARINDA KULLANIMI

Özellikle tıp ve veteriner hekimliği gibi sağlık eğitimi veren fakültelerde teşhis ve tedavi modüllerinin, cerrahi operasyonların simülasyonları kullanılarak ön deneyimler gerçekleştirilmektedir. Sanal sınıflar, laboratuvarlar, ameliyathaneler, bazı üniversite ve eğitim kurumları tarafından başarılı bir şekilde denmektedir. Bu tarz ortamlarda öğretim elemanı ve öğrenci arasındaki gerçek etkileşim devam etmekte, ancak sanal ortam koşulları hissedilmektedir. Tv'lerde, bir sunumun, bir operasyonun canlı video görüşmesi sırasında görüntülerini hologramik olarak izleyebilmekteyiz (Resim 4). Real Image Wieving tekniği ile, taranan doku ve organların hologram görüntüleri önümüzde yer almakta hatta elektronik neşter ile üzerinde kesi ve diğer işlemler yapılabilmektedir. Artırılmış gerçeklik gözlüğü ile bir beyin hologramı elle tutuluyor gibi görülebilmekte, bu hologram beyin görüntüsünü el ile uzanıp avucunuza alabilmektesiniz. SG, AG ve hologram donanımlı ameliyathane, laboratuvar ve sınıflarla yakın gelecekte rutin olarak karşılaşacağımız düşünülmektedir (Milgram and Kishino 1994).



Resim 4. Operasyonda üç boyutlu görüntü desteği
Figure 4. Three-dimensional image support in operation

Tıbbi disiplinlerde bu konuda yapılmış çalışmalar oldukça yetersizdir. Az sayıdaki çalışmadan birisi olan Küçük ve arkadaşlarınınca yapılan araştırma, anatomi dersinde mobil artırılmış gerçeklik (MAG) kullanımı sonrası tıp fakültesi öğrencilerden aldıkları geri bildirimlere yer vermektedir. Ders kitaplarının artırılmış gerçeklik ile desteklenmesi, derslerde AG uygulamalarının kullanılması tüm öğrencilerin ortak talebi olarak not edilmiştir. Ayrıca öğrencilerin bireysel olarak AG uygulamalarını öğrenme aracı olarak kullanmak istedikleri, bu uygulamaları faydalı ve kullanışlı buldukları, uygulamadan memnun kaldıkları bildirilmiştir (Küçük ve ark. 2015). Yapılan çalışmalar AG teknolojisinin bireylerde oluşturduğu algının bireysellik ve kullanım kolaylığı olduğunu göstermektedir (Chang et al 2011, Wojciechowski and Cellary 2013, Yusoff et al 2011). MAG uygulamalarında, öğrenciler sesler, üç boyutlu animasyon, video ve resimlerle desteklenmiş sanal ortamı eğlenceli bulmuş, ders saatlerinde ve günün diğer saatlerinde MAG çoklu ortam uygulaması kullanmaktan hoşnut kalmışlardır. Zor konuların MAG uygulamalarıyla desteklenmesi istenmiştir. Öğrenciler, araştırma kapsamında dersin anlaşılmasını kolaylaştırmak amaçlı sunulan üç boyutlu video animasyonlardan memnun kalmışlardır (Küçük ve ark. 2015). Animasyonlar ve tematik videolar günümüzde zaten yaygın çoklu ortam materyalleri arasındadır ve statik görsellerden daha etkili oldukları bilinmektedir (Pettersson et al 2009). Benzer veriler paylaşan çalışma sonuçları mevcuttur (Martín-Gutiérrez et al 2010, Von Jan et al 2012, Cai et al 2013, Di Serio et al 2013, Wojciechowski and Cellary 2013). MAG uygulamalarının konuyu somutlaştırırken gerçeklik hissi oluşturması cazibesini artıran bir faktördür. Zaten artırılmış gerçeklik, gerçek görüntü üzerine sanal nesnelere eklenmesiyle sanal nesnelere ve birey arasında eş zamanlı etkileşim sağlayarak gerçeklik hissi oluşturma prensibine dayanmaktadır (Carmigniani et al 2011). MAG ile nesnelere canlanarak üç boyutlu animasyona, tıbbi eğitimde bir insan modeline, veteriner hekimlikte bir hayvansal modele dönüşmesi ile oluşan gerçeklik hissi, konunun resim, kadavra ve maketlerden öğrenilmesine göre daha kolay ve daha cazip olduğunu düşündürmektedir. Öğretim elemanından konuyu tekrar anlatmasını istemek, ortam psikolojisi açısından çok kolay olmamaktadır. Bu gibi faktörler ve doğrudan gözle görülmesi, yakından izlenmesi mümkün olmayan varlık ve mekanizmaları, süreçleri, operasyonlar ve deneyleri üç boyutlu animasyonlar ile somutlaştırmak iyi bir öğrenim tekniği olabilir (Wu et al 2013). Teşhiste isabetliliği artırabilecek sanal yöntemler de geliştirilmektedir. Bu konuda en çok çalışma diş hekimliği disiplinlerindedir. Daha sonra beşeri tıp ve hemşirelik alanındaki araştırma ve uygulamalar gelmektedir. Çok önemli bir tıbbi disiplin olan veteriner hekimliği ile ilgili sanal

gerçeklik çalışmaları ve uygulamalar gelişmiş ülkelerde mevcuttur ama yetersizdir. Türkiye'de ise veteriner hekimliği eğitimi ve uygulamalarında sanal gerçeklikten yararlanmaya yönelik herhangi bir çalışmaya literatür aramalarında rastlanılmamaktadır. Veteriner hekimliği eğitiminde de elbette birçok yenilikçi öğrenim araçları ve yaklaşımları vardır. Çünkü yeni yöntemlerle ilerlemek bir zorunluluktur. Öğrenci ve akademisyenlerin hayvanlara, hayvanların (bazen savunma refleksi ile) onlara zarar vermesine yol açabilen klasik pek çok yöntem artık tercih edilmemektedir. Asıl amaç, hayvan refahına ve hayvan haklarına zarar vermeden öğrencinin veteriner hekimliği eğitimi alması ve tecrübe edinmesidir. Veteriner hekimliği eğitiminde, bu temel kriterlere uygun şekilde sanal gerçeklik ve hologram gibi daha ileri uygulamalardan henüz yeterince yararlanılmamaktadır (Martinsen and Jukes 2005). Üç boyutlu simülasyon teknolojisi heyecan verici ve göz ardı edilemez gelişimiyle veteriner tıbbının zorlu eğitim, teşhis ve müdahale süreçlerinde belirgin bir şekilde yer alacaktır. Donanımlı, yetkin veteriner hekimler için, sanal gerçeklik ve 3D simülasyon teknikleri gibi imkanların ulaşılabilir olması, mesleki ve klinik uygulamalardaki hızlı değişimlere ve bilimsel yeniliklere ayak uydurmada önemlidir. Bu hedefe ulaşmada karşılaşılan güçlükler arasında hayvan refahı nedeniyle eğitim esnasında gerçek hastaların bulunup bulunmadığına dair sınırlamalar gelmektedir. Temel olarak insan tıbbi deneyimlerinden yola çıkarak, öğrencilerin temel deneyler ve klinik becerilerini geliştirebilmeleri konusunda güvenli ve etik alternatif fırsatlar sağlanması açısından veteriner hekimliği ve tıp eğitiminde simülasyonların kullanımı önemsenmeli ve yoğunlaştırılmalıdır (Scalese and Issenberg 2005). Bilgisayar grafikleri ve sanal gerçeklik ortamları, karmaşık 3D mekânsal ilişkileri görselleştirmede ideal olduğu için artırılmış gerçeklik uygulamalarında, bilgi içeriği gerçek ve sanal görüntülere ait verilerle birbirine bağlanır. Bu tekniklerden veteriner hekimliği eğitiminde de yararlanılmaya başlanmış, atlarda ovarium palpasyonu gibi teşhis tekniklerine yönelik ürünler hazırlanmıştır (Crossan et al 2000). Bu kapsamdaki bir başka önemli araştırma (Lee et al 2013) tarafından yapılmıştır. Çalışma, veteriner hekimliği ve teknikerliği eğitimi alan öğrencilere köpekte intravenöz (IV) enjeksiyon simülatörü geliştirmek amacını taşımaktadır. Bir köpeğin tomografik görüntüleri, 64 kanallı bir ultra detektör kullanılarak taranmış, görüntüler bir görüntü parçalama yöntemi kullanılarak hacimsel veri setlerine dönüştürülerek 3D modeller oluşturmak için bir stereolitografi formatına dönüştürülmüştür. IV enjeksiyon için AG simülatörü için AG temelli bir arabirim geliştirildi. Gönüllü öğrencilere AG ortamında, kontrol grubuna ise canlı köpeklerde IV enjeksiyon tekniği eğitimi verilerek eğitim bitiminde öğrencilerden bir anket doldurmaları istenmiştir. AG simülatörü kullanılarak eğitilen grubun gerçek köpek

kullanan gruba göre IV enjeksiyon tekniğinde daha yetkin olduğu, öğrencilerin AG simülatorü ile IV enjeksiyon tekniğini iyi öğrendikleri tespit edilmiştir. Araştırmacılar, bu teknolojiyi kullanarak, veteriner hekimliği eğitiminde kullanılmak üzere veteriner AG simülatorleri geliştirilebileceğini rapor etmişlerdir (Lee et al 2013). Tıp ve veteriner tıbbi eğitiminde anatomi ağırlıklı bir yer tutar ve geleneksel olarak öğrenciler elle deneyim kazanır. Bununla birlikte, diseksiyon eğitimi, müfredat saatlerinin azalması nedeniyle büyük baskı altındadır. Bu nedenle anatomi eğitiminde evrimi, geleneksel kadavra diseksiyonunu alternatifli hale getirmek için bilgisayar tabanlı kaynakların kullanımını öneren çalışmalar mevcuttur (Maza 2010). Bu çalışma Apple QuickTime VR gibi programlar ile dijital hareketsiz görüntüleri veya animasyonlu 3D kaynakları görüntülemek için internet veya yerel alan ağlarını kullanmak da dâhil olmak üzere yeni kaynaklar geliştirilerek öğrencilerin ve akademisyenlerin diseksiyon laboratuvarında daha hızlı ve kaliteli öğrenim deneyimi geliştirilebileceğini ileri sürmektedir. Araştırma, öğrencilerin çoğunun her iki kaynağı da öğrenmede önemli algıladıklarını göstermektedir (Maza 2010). Anatomi ve tüm tıbbi eğitim süreçleri, doğasında görsel açıdan güçlü bir desteğe ihtiyaç duyduğu için, derslerde resim ve animasyon kullanmak önemlidir. QuickTime sanal gerçeklik yazılımı, anatomik yapıları üç boyutlu bir biçimde sunmayı mümkün kılmıştır, böylece tıp ve veteriner hekimliği fakülteleri gibi okullarda eğitimin her kademesinde bilgisayar tabanlı araçların yeri daha da artmış olacaktır. Sanal gerçeklik tasarımlar ile, CT, MRI, PET gibi görüntüleme ekipmanlarından alınan sayısal veriler, yeni nesil yazılımlarla üç boyutlu hale getirilerek, ürünün donanımsal modüllerinden birisi olarak sanal gerçeklik gözlüğüne görüntülenmesi, görüntülerin yine ürünün donanımsal modüllerinden olan sanal gerçeklik eldiveni yardımıyla, oluşturulan görüntüde dokunma hissinin algılanarak incelenmesi, işlenmesi sağlanabilmektedir (Resim 5) (Anonim, Sisoft 2017).



Resim 5. Radyolojide üç boyutlu görüntü
Figure 5. Three-dimensional image in radiology

MAG tekniği, esnek öğrenme ortamı oluşturması, zaman yönetimi, erişim kolaylığı ve çalışma rahatlığı

sağlaması nedeniyle öğrenmeyi ve kavrama yeteneğini artırması nedeniyle seminer, ders, uygulama, teşhis ve deneylerde başarı için tercih edilebilecek bir tekniktir (Liaw et al 2010, Di Serio et al 2013).

Sanal/artırılmış gerçeklik uygulamaları, öğrencilerde ilgili yazılım ve tasarımlara yönelişi artırmış ve bu uygulamaların öğrencilerde tekniğin gelişmesi için verebilecekleri katkıyı araştırma ve artırılmış gerçeklik teknolojisiyle meşgul olma davranışını geliştirdiği izlenmiştir (Mıdık ve Kartal 2010). Z kuşağının dijital teknolojileri kullanma yatkınlıkları ve becerileri düşünüldüğünde, tüm alanlarda AG uygulamalarının geliştirilmesindeki rolleri göz ardı edilmemelidir.

SONUÇ

Çok sayıda duyu organına hitap ettiği için daha kalıcı, daha etkili, daha eğlenceli, daha birey odaklı öğrenme sağlayan bu teknik, canlı modellerde deneyimlemenin zor olduğu, hatta çevresel ve etik olarak mümkün olmayan deney, test gibi aktiviteleri sanal ortamda gerçekleştirip sonuçlarını görmek ve çıktılarını almak gibi imkânlar sunmaktadır. Bire bir eğitim algısını güçlendirdiği için eğitim kalitesi, öğrenme çıktılarını artıran, öğrencilerin daha aktif bir öğrenim sürecine katılmaları ile motivasyonu artırıp, zaman ve mekan açısından özgürlüğü teşvik eden bir yöntemin en hızlı şekilde üniversitelerin uygulamalı bölümlerinde yer alması global bilim ve eğitim rekabeti için önemi ortadadır. Sanal gerçeklik, artırılmış sanal gerçeklik ve hologram tekniklerinin elbette sınırlılıkları da mevcuttur. Gelişmiş, bir alt yapı, oturmuş program ve ekipmanlar gibi yazılım ve donanım gereçleri kurumlara cazip görünmeyebilmektedir. Bireysel olarak da, uzun süreli kullanımlarda baş dönmesi, baş ağrısı gibi semptomları içeren olgular mevcuttur. Yeterli düzeyde olmayan FPS yani saniyede yakalanan kare sayısı değerleri, ekran yenileme hızı gibi teknolojik yetersizlikler, kullanıcı hareketleri ile görüntü arasında gecikme sorunlarını gündeme getirmektedir. Bütün bunlara rağmen, 5G ve sonrasında 2000 Mbps hıza ulaşacağı öngörülen sanayi tipi internetle birlikte bazı sorunlar önemli düzeyde ortadan kalkmış olacaktır. Sanal gerçeklik ve artırılmış gerçeklikle ilgili yoğun ARGE çalışmaları, bu kısıtları da ortadan kaldırabilecek yeni ürünler, teknikler ve uygulamalara imkân sağlayacaktır. Türkiye'de konu, özellikle tıp ve veteriner hekimliği alanlarında henüz farkındalık aşamasındadır, bu nedenle proje, bilimsel çalışma ve tartışma düzeyi yetersizdir. Yurtdışındaki örnekler de yetersiz olmasına rağmen global platformların aldığı mesafe oldukça ileridir. Bu çıktı ve ürünler takip edilerek, benzer uygulamaları Türkiye'de de gerçekleştirilmek suretiyle sürece ivedilikle dâhil olunmalıdır. Her alanda kullanımı her geçen gün artan sanal ve artırılmış gerçeklik imkânları ile tıbbi eğitim ve uygulamalara ilişkin tekniklerde yaşanacak köklü değişiklikleri öngörebilmeliyiz. Uluslararası rekabette

ve eğitim kalitesinde önemli bir belirteç olan sanal gerçeklik, artırılmış gerçeklik ve hologram tabanlı yazılım-donanımları rutinleştirecek projeler stratejik temalar kapsamına alınmalıdır. Bu konuda bilim adamı, öğretmen ve akademisyen yetiştirilmesi ve oluşturulacak tek işi bu olan mükemmeliyet merkezleri ile veri işleme, yazılım ve donanım yeteneği olan personel yetiştirilmesine yönelik ARGE bantları oluşturulması sağlanabilmelidir. YÖK, TÜBİTAK, TUBA, Kalkınma Bakanlığı ve kalkınma ajanları ile üniversitelerdeki Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüklerinin bu kapsamdaki yatırım ve projelere pozitif ayrımcılık göstermeleri önem arz etmektedir. Üniversiteler Arası Kurul birimlerinden Tıp-Sağlık Bilimleri Eğitim Konseyinin, bu tekniklerin yaygınlaştırılması amaçlı pilot uygulamaları başlatmak amacıyla tıp-sağlık eğitimi veren fakülteleri yönlendirmesi de önemli bir etki sağlayabilir. 4. ve 5. Beş Yıllık Kalkınma Planları ile Milli Eğitim Temel Kanunu gereği dijital teknolojiler ve teknikler stratejik öncelik arz etmektedir. Milli Eğitim Temel Kanunu'nun 13. Maddesi, "Her derecede ve türdeki eğitim programlarının, yöntem araç ve gereçlerin bilimsel ve teknolojik esaslara, yeniliklere, ihtiyaçlara göre geliştirileceği"ni öngörmektedir. Bu durumda, milli eğitimin yüksek öğretim ayağını oluşturan üniversitelerde, özellikle tıp ve mühendislik gibi uygulamalı bölümlerde sanal gerçeklik tabanlı teknikler önemsenmeli, ayrıca proje ve araştırmalar teşvik edilmelidir. Sağlık eğitimi verilen tıp, veteriner hekimliği, diş hekimliği, eczacılık ve sağlık bilimleri fakültelerinde sanal gerçeklik, artırılmış sanal gerçeklik hatta hologram imkânlarıyla desteklenmiş eğitimin rutinleştirilmesi, çıktı kalitesi ve global rekabet için de kaçınılmazdır.

KAYNAKLAR

- Aktan CC.** Yüksek Öğretimde Değişim: Global Trendler, Yeni Paradigmalar. Yaşar Üniv. Yayınları. İzmir, 2007; 1-47.
- Anonymous.**
http://www.immersivejournalism.com.
Assessien date: 10.01.2017.
- Anonymous.**
http://www.sisoft.com.tr/haber/page?SYF=Detay&hb=2183. Assessien date: 14.03.2017
- Anonymous.**
https://tr.wikipedia.org/wiki/Art%C4%B1r%C4%B1lm%C4%B1%C5%9F_ger%C3%A7eklik.
Assessien date: 01.12.2015.
- Aydoğan İ.** Kuantum Fiziğinin Eğitim Bilimlerine Etkisi: Hologram ve Morfik Alanlar. Sosyal Bilimler Enstitüsü Derg. 2011; 31(2): 189-198.
- Bayraktar E, Kaleli F.** Sanal gerçeklik ve Uygulama Alanları. Dumlupınar Üniv. Akademik Bilişim Günleri. 2007; 31 Ocak-2 Şubat. Sayfa: 1-6.
- Cai S, Chiang FK, Wang X.** Using the Augmented Reality 3D technique for a convex imaging experiment in a physics course. International Journal of Engineering Education. 2013; 29(4): 856-865.
- Carmigniani J, Furht B, Anisetti M, Ceravolo P, Damiani E.** Augmented reality technologies, systems and applications. Multimedia Tools and Applications. 2011; 51(1): 341-377.
- Chang YJ, Chen CH, Huang WT, Huang WS.** Investigating students' perceived satisfaction, behavioral intention, and effectiveness of English learning using augmented reality. Proceedings of the International Conference on Multimedia and Expo. USA: IEEE Computer Society. Washington, 2011; 1-6.
- Crossan A, Brewster SA, Glendye AA.** Horse Ovary Palpation Simulator for Veterinary Training. In *Proceedings of PURS 2000 (Zurich) Hartung-Gorre*, 2000; 79-86.
- Çavaş B, Huyugüzel Çavaş P, Taşkın Can B.** Eğitimde sanal gerçeklik. The Turkish Online Journal of Educational Technology. 2004; 3(4): 110-16.
- Dalkıran HP.** Holografı Tekniğinin Haritacılık Alanında Uygulanması. TMMOB 13. Türkiye Harita Bilimsel ve Teknik Kurultayı 18-22 Nisan 2011, Ankara.
- Di Serio A, Ibáñez MB, Kloos CD.** Impact of an augmented reality system on students' motivation for a visual art course. Computers & Education. 2013; 68(11): 586-596.
- Etlıcan G.** X ve Y kuşaklarının online eğitim teknolojilerine tutumlarının karşılaştırılması. Y. L. Tezi. Bahçeşehir Üniv. Sosyal Bilimler Ens. İstanbul, 2012.
- Henderson MJ.** Human gaze control during real-world scene perception. Trends in Cognitive Science. 2003; 7(11): 498-504.
- İnan C.** Application samples of the constructivist approach in mathematics teaching. DÜ Eğitim Fakültesi Derg. 2006; 6: 40-50.
- Karahisar T.** Dijital nesil, dijital iletişim ve dijitalleşen Türkçe. Online Academic Journal of Information Technology. 2013; 4(12): 71-83.
- Kayabaşı Y.** Sanal gerçeklik ve eğitim amaçlı kullanılması. The Turkish Online Journal of Educational Technology 2005; 4(3): 151-58.

- Küçük S, Kapakin S, Göktaş Y.** Tıp fakültesi öğrencilerinin mobil artırılmış gerçeklikle anatomi öğrenimine yönelik görüşleri. *Yükseköğretim ve Bilim Derg.* 2015; 5(3): 316-323.
- Lee S, Lee J, Lee A, Park N, Lee S, Song S, Seo A, Lee H, Kim JI, Eoma K.** Augmented reality intravenous injection simulator based 3D medical imaging for veterinary medicine. *The Veterinary Journal* 2013; 196: 197-202.
- Liaw S, Hatala M, Huang HM.** Investigating acceptance toward mobile learning to assist individual knowledge management: based on activity theory approach. *Computers & Education.* 2010; 54(2): 446-454.
- Martín-Gutiérrez J, Saorín JL, Contero M, Alcañiz M, Pérez-López D, Ortega M.** Design and validation of an augmented book for spatial abilities development in engineering students. *Computers & Graphics.* 2010; 34(1): 77-91.
- Martinsen S, Jukes N.** Towards a humane veterinary education. *Journal of Veterinary Medical Education* 2005; 32: 454-460.
- Maza PS.** Comparison of gross anatomy test scores using traditional specimens vs. QuickTime Virtual Reality animated specimens. Dissertation Publishing. 2010; UMI Number: 3429065. USA.
- Mıdık Ö, Kartal M.** Simülasyona dayalı tıp eğitimi. *Marmara Medical Journal* 2010; 23(3): 389-399.
- Milgram P, Kishino F.** A Taxonomy of Mixed Reality Visual Displays. *IEICE TRANSACTIONS on Information and Systems* 1994; 77(12):1321-1329
- Mudun AB.** Yapay Göz. *T. Oft. Gaz.* 2001; 31: 75-80.
- Petersson H, Sinkvist D, Wang C, Smedby O.** Web-based interactive 3D visualization as a tool for improved anatomy learning. *Anatomical Sciences Education.* 2009; 2(2): 61-68.
- Robinett W.** Interactivity and individual viewpoint in shared virtual worlds: The big screen vs. networked personal displays. *Computer Graphics.* 1994; 28(2): 127.
- Sarıkoç G.** Sağlık çalışanlarının eğitiminde sanal gerçekliğin kullanımı. *Hemşirelikte Eğitim ve Araştırma Dergisi,* 2016; 13(1): 11-5.
- Scalese RJ, Issenberg SB.** Effective use of simulations for the teaching and acquisition of veterinary professional and clinical skills. *Journal of Veterinary Medical Education,* 2005; 32(4): 461-467.
- Sell MA and Sell W.** *View-Master Viewers: An Illustrated History.* 1994 Borger, The Netherlands: 3-D Book Productions.
- Somyürek S.** Öğrenme sürecinde z kuşağının dikkatini çekme: Artırılmış gerçeklik. *Eğitim Teknolojisi Kuram ve Uygulama.* 2014; 4(1): 63-80.
- Şahin ÖY.** Eğitimde sanal gerçeklik, artırılmış gerçeklik. <http://kodyazar.net/tr/egitimde-sanal-gerceklik-artirilmis-gerceklik/> Erişim tarihi: 11.03.1016.
- Türker İH.** İmgeden sanal gerçekliğe. *Anadolu Sanat Dergisi.* 2005; 16:1-6.
- Von Jan U, Noll C, Behrends M, Albrecht UV.** Augmented reality in medical education. *Biomedical Engineering* 2012; 57(1): 67-70.
- Wang L, Hampel F, Gladysz JA.** Gyroskop-Giganten: dipolare Cl-Rh-CO-Rotatoren. umgeben von Statoren aus drei Speichen 25-bis 27-gliedriger Makrocyclen. *Angewandte Chemie.* 2006; 118 (26): 4479-4482.
- Wojciechowski R, Cellary W.** Evaluation of learners' attitude toward learning in ARIES augmented reality environments. *Computers & Education.* 2013; 68: 570-585.
- Wu HK, Lee S W, Chang HY, Liang JC.** Current status, opportunities and challenges of augmented reality in education, *Computers & Education.* 2013; 62: 41-49.
- Yusoff RC, Zaman HB, Ahmad A.** Evaluation of user acceptance of mixed reality technology. *Australasian J of Educational Technology.* 2011; 27(8): 1369-1387.

Bütirik Asit: Yapısı, Özellikleri ve Sağlık Üzerine Etkileri

Abdullah ÇAĞLAR, Oktay TOMAR, Teslime EKİZ*

Afyon Kocatepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, GıdaMühendisliği Bölümü AFYONKARAHİSAR

*Corresponding author e-mail: tekiz@aku.edu.tr

ÖZ

Kısa zincirli yağ asitleri; bağırsak lümeninde, sindirilmemiş diyet karbonhidratları gibi çeşitli maddelerin bakteriyel fermantasyonuyla üretilen organik asitlerdir. Fermente edilebilir karbonhidrattan kolonik kısa zincirli yağ asitleri oluşumu, kolonik epitelyumun morfolojik ve işlevsel bütünlüğünün korunması gibi birçok fonksiyon için önemlidir. Üretilen bu kısa zincirli yağ asitlerinden birisi de, bütirik asittir. Bütirik asit (bütirat) sütte doğal olarak bulunan bir maddedir. Gıda maddeleri ve içecek endüstrisinde uygulamaları çok iyi bilinen bütirik asitin birçok kullanım alanı bulunmaktadır. Çeşitli üretim yöntemleri ile elde edilen bütirik asit, doğrudan ve dolaylı olarak farklı fizyolojik etkilere sahiptir. Diğer kısa zincirli yağ asitleri ile karşılaştırıldığında, biyolojik fonksiyonları arasında ayrı bir yere sahip olan bütirik asit, epitel hücreleri için enerji kaynağıdır. Bu madde, kolonik sağlığı etkileyen çok çeşitli hücresel işlevleri de etkilemektedir. Bütirat, kolonik savunma bariyerinin çeşitli bileşenlerini takviye ederek ve oksidatif stresi azaltarak inflamasyon ve karsinogenez inhibisyonu gibi çeşitli kolonik mukozal fonksiyonlar üzerinde güçlü etkiler gösterir. Ayrıca bu madde, yetersiz bütirik asit metabolizması sonucunda insanlarda gelişen ülseratif kolitin ve sindirim sisteminde görülen Crohn hastalığına sahip kişilerin tedavisinde de kullanılmaktadır. Bu derlemenin amacı, bütirik asitin önemi ve insan sağlığı üzerinde sahip olduğu çeşitli fonksiyonları hakkında genel bir bakış sağlamaktır.

Anahtar Kelimeler: Bütirik asit, Bütirat, Kısa zincirli yağ asitleri, Kolon, Sağlık.

Butyric Acid: Structure, Properties and Effects on Health

ABSTRACT

Short chain fatty acids are organic acids produced in the intestinal lumen by bacterial fermentation of various substances such as undigested diet carbohydrates. Colonic short chain fatty acids formation from fermentable carbohydrate is important for many functions, such as preserving the morphological and functional integrity of the colonic epithelium. One of these short chain fatty acids produced is butyric acid. Butyric acid (butyrate) is a naturally-found substance in milk. There are many applications of butyric acid, which are well known in foodstuffs and beverage industry. Butyric acid obtained by various production methods has different direct and indirect physiological effects. When compared to other short chain fatty acids, butyric acid, which has a distinctive biological function, is a source of energy for epithelial cells. This substance affects a wide range of cellular functions that affect colonic health. Butyrate has strong effects on various colonic mucosal functions such as inflammation and inhibition of carcinogenesis by supplementing various components of the colonic defense barrier and reducing oxidative stress. It is also used in the treatment of people with Crohn's disease in the digestive tract and ulcerative colitis that develop in humans as a result of inadequate butyric acid metabolism. The purpose of this review is to provide an overview of the importance of butyric acid and the various functions that butyric acid has on human health.

Key Words: Butyric acid, Butyrate, Short-chain fatty acids, Colon, Health.

GİRİŞ

Kısa zincirli yağ asitleri esas olarak, sindirilmemiş şekerlerin ve diyet lifinin bağırsak bakteri florası tarafından gerçekleştirilen fermantasyonunun nihai ürünleridir (Rombeau ve ark. 1986, Cummings ve ark. 2004). Kısa zincirli yağ asitleri 1 ila 6 karbon atomlu organik yağ asitleridir. Farklı karbon zincir uzunluklarına sahip olan (asetat (C2), propiyonat (C3), bütirat (C4), valerat (C5) ve kaproat (C6)) kısa zincirli yağ asitleri, diyet ve bağırsak mikrobiyotasının kompozisyonuna bağlı olarak değişik miktarlarda üretilmektedir (van Nuenen ve ark. 2003). Asetat (C2), propionat (C3) ve bütirat (C4) memeli fizyolojisinin içerdiği en önemli kısa zincirli yağ asitleridir (Canani ve ark. 2011). Propiyonik ve bütirik asit üretimi, özel bakteri gruplarının faaliyeti sonucu oluşmaktadır. Kısa zincirli yağ asitlerinin büyük bir kısmını oluşturan asetat ise pek çok bakteri grubu tarafından üretilmektedir (Raman ve ark. 2016). Ayrıca, üretilen bu asetat bağırsak bakterileri tarafından bütirat üretimi için kullanılmaktadır (Duncan ve ark. 2005).

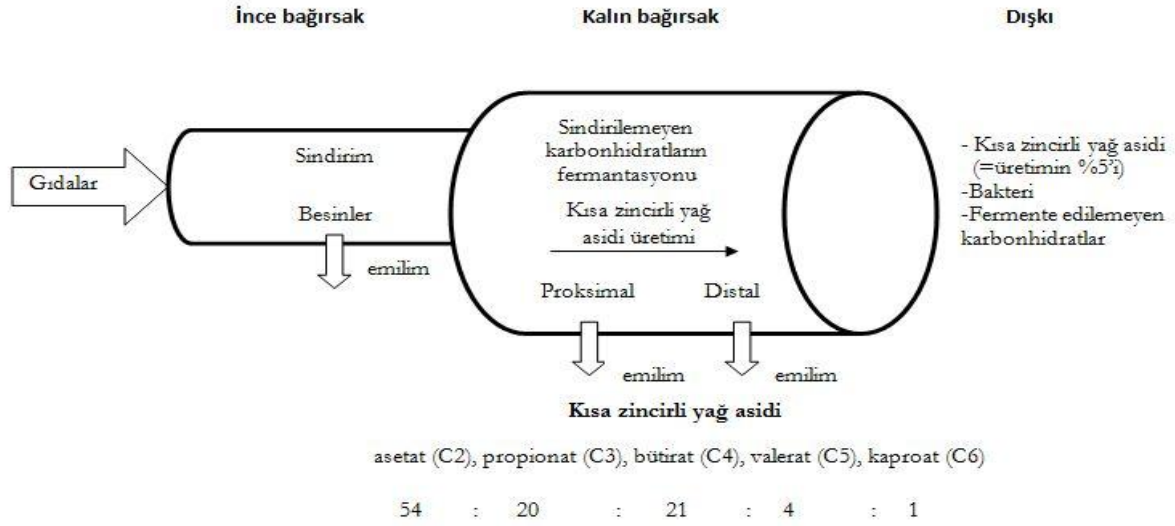
Kısa zincirli yağ asitleri üretiminin oranı ve miktarı, kolondaki mikroflora türü ve miktarlarına, substrat kaynağına ve bağırsaktan geçiş süresine bağlıdır (Wong ve ark. 2006). Bunlar kör bağırsak ve rektum arasında azalan bir fark ile tüm kalın bağırsak boyunca üretilmektedir (Smith ve Bryant 1979). Kısa zincirli yağ asitlerinin oluşumunda karbonhidratlar kantitatif olarak en önemli rolü oynamaktadır (Topping ve Clifton 2001, Macfarlane ve Macfarlane 2003). İnce bağırsakta sindirim ve farklı besin maddelerinin emilimi gerçekleşirken, buna karşın kalın bağırsakta gıda kalıntılarının mikrobiyal fermantasyonu gerçekleşmektedir. Diyet liflerinin ve dirençli nişastaların kolonik mikrobiyota tarafından sakkarolitik fermantasyonu kısa zincirli yağ asitlerinin, özellikle asetat, propionat ve bütiratın oluşumuna yol açmakta, aynı zamanda valerat ve kaproat da oluşturmaktadır. Kısa zincirli yağ asitleri hızla emilir ve sonunda üretilen kısa zincirli yağ asitlerinin yaklaşık %5' i dışkıda kalır (Watzl ve ark. 2005, Hamer 2009) (Şekil 1). Kısa zincirli yağ asitleri pK değeri $\leq 4,8$ olan zayıf asitlerdir ve gastrointestinal sistemin pH değeri neredeyse nötrdür, kısa zincirli yağ asitlerinin %90-99' u serbest asitlerden ziyade anyonlar olarak gastrointestinal sistemde bulunur (Anonim 2015a). Kısa zincirli yağ asidi üretimi, esas olarak, ince bağırsakta sindirilmeyen diyet lifi olarak karbon kaynaklı enerjinin kurtarılmasına olanak tanır (Hamer 2009). Kısa zincirli yağ asidinin, insanların toplam kalorik gereksinimlerinin yaklaşık %5-15' ine katkıda bulunabileceği tahmin edilmektedir (Bergman 1990). Roediger 1980' lerin başında kısa zincirli yağ asitlerinin kolonositlerin beslenmesinde önemli bir rol oynadığını göstermiştir (Roediger 1980). Sonraki klinik araştırmalar ve hayvan deneyleri, kolit

tedavisinde kısa zincirli yağ asitlerinin terapötik etkinliğini göstermiştir (D'Argenio ve ark. 2007).

Alınan karbonhidratların çoğunluğu ince bağırsakta emilmemekle birlikte kolonda anaerobik bakteri florası tarafından kısa zincirli yağ asitlerine dönüştürülmektedir (Levitt 1983). Normal kolon florasını oluşturan çeşitli bakteri popülasyonlarının, çeşitli şekillerde üretilen kısa zincirli yağ asitlerinin türünü ve miktarını etkilediği göz önüne alındığında (Scheppach ve ark. 1992), bağırsağın mikroflora dengesizliği kısa zincirli yağ asitleri metabolizmasında önemli ölçüde zarar oluşturabilir (Clausen 1992). Kısa zincirli yağ asitleri kolonisitler tarafından ya absorbe edilebilmekte ya da kullanılabilir. Aksi takdirde karaciğer tarafından absorbe edilebilmekte ve metabolize olabilmektedir (Scheppach 1998). Fermente edilebilir karbonhidrattan kolonik kısa zincirli yağ asitleri oluşumu, kolonik epitelyumun morfolojik ve işlevsel bütünlüğünün korunması için önemlidir (Pouillart 1998). Spesifik kısa zincirli yağ asitleri, gastrointestinal bozukluklar, kanser ve kardiyovasküler hastalık oluşma riskini azaltabilir (Wong ve ark. 2006). Kolonik sağlık ve bariyer fonksiyonunun bakımı ile ilgili olarak bütirat, kolonositlerin başlıca enerji kaynağı olduğu için kısa zincirli yağ asitleri arasında özellikle dikkat çekmektedir (Roediger 1982, Roediger 1990, Anonim 2015a). Bu madde lümen pH' sının 5.0-5.6' ya düşürülmesi ve kolonik mikrofloranın değişimi ile ilişkilidir (Rechkemmer ve ark. 1988, Oltmer ve Engelhardt 1994). Bunların yanı sıra kolonik sağlığı etkileyen çok çeşitli hücresel işlevleri de etkilemektedir (Hamer 2009). Çoğunlukla n-bütirat olan kısa zincirli yağ asitlerinin yetersiz bulunmasının veya kullanımının, kolitin nedeni olduğu bildirilmektedir (Soergel 1994).

Bütirik Asit

Bütirik asit, 4 karbonlu, renksiz, karakteristik kokulu, yağsı bir karboksilik asittir (Lehninger ve ark. 1993, Widmer ve ark. 1996, Bilgin ve ark. 2014). Moleküler formülü $CH_3CH_2CH_2-COOH$ olup yapısı Şekil 2' de gösterilmiştir (Spina ve ark. 2007). Suda çözünebilir ve odada hafif uçucudur (Smith ve ark. 1998). Bütirik asit süt yağ asitlerinin bir unsurudur ve tipik olarak sadece triaçilgliserol moleküllerinin sn-3 pozisyonunda esterleştirilmektedir (Smith JG ve ark. 1998). "Tereyağı asidi" olarak da bilinen bütirik asit sütte doğal olarak bulunmaktadır (Bilgin ve ark. 2014, Anonim 2015b). 100 g süt 3 ila 5 mmol bütirik asit içerir ve 100 g peynir 30 mmol'e kadar bütirik asit içerir (Smith JG ve ark. 1998). İnsan sindirim sisteminde, çoğu süt-yağ triaçilgliserolü safra ile, pankreas lipazı tarafından serbest yağ asitleri ve 2-monogliseridleri serbest bırakmak için hızla hidrolize edildiği duodenumda emülsifiye edilmektedir (Smith JG ve ark. 1998).



Şekil 1. Kolonik kısa zincirli yağ asitleri oluşumu (Hamer 2009).

Figure 1. Colonic short chain fatty acids formation (Hamer 2009).

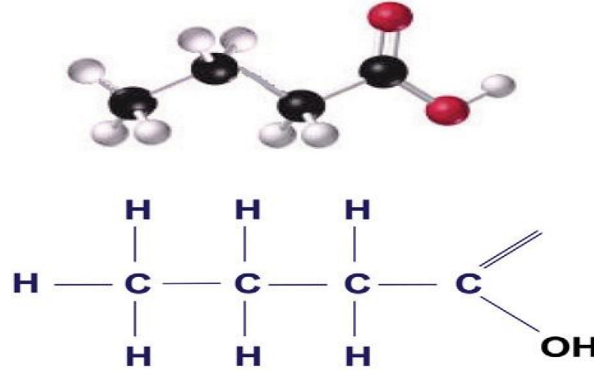
Bütirik asit, Na, K, Mg veya Ca' un tuz formunda bulunabilmektedir (Anonim 2015a). Tuzların serbest asitlere kıyasla avantajı ise, katı ve daha az uçucu biçimlerinden ötürü genel olarak kokusuz olmaları ve daha çok yem üretim proseslerinde kullanılmalarıdır (Anonim 2015a). Bütirat diğer kısa zincirli yağ asitleri ile karşılaştırıldığında biyolojik fonksiyonları bakımından diğer kısa zincirli yağ asitlerinden farklıdır (Anonim 2015a). Memelilerin kolonlarında diyet lifi, sindirilmemiş nişasta ve proteinlerin anaerobik bakteriyel fermentasyonu sonucu oluşan, yaygın üç kısa zincirli yağ asitlerinden (bütirat, propiyonat ve asetat) biri olan bütirik asit; (McIntyre ve ark. 1993, McIntosh ve ark. 1996, Pouillart 1998) belirli memelilerin meme bezinde olağandışı metabolizma yoluyla da üretilmektedir (Smith JG ve ark. 1998). Asetat ve propiyonatın aksine bütirat, tamamen kolonda yeniden emilen tek kısa zincirli yağ asitidir (D'Argenio ve ark. 2007). Uzun zincirli doymuş yağ asitlerinin asetil-CoA' ya bağlı katabolik oksidasyonundan doğal olarak oluşur (Widmer ve ark. 1996, Lehninger ve ark. 1993). Hayvan metabolizmasının doğal bir bileşeni olan bütirik asit kolonik epitelyum için önemli bir yakıt olarak kabul edilmektedir (Jacobs 1986, Roediger 1981, Pouillart 1998). Bu madde kolonistlere gerekli enerjinin %70' ten fazlasını sağlamaktadır (D'Argenio ve ark. 2007). Mitokondriyumda karbondioksit ve asetil-CoA'ya oksidasyon yoluyla dönüştürülmesi aracılığı ile hızla emilir ve metabolize olur (Gasbarroni ve Lauritano 2007). Birçok kullanım alanı bulunan bütirik asitin, gıda maddeleri ve içecek endüstrisinde uygulamaları oldukça yaygındır (Vandák ve ark. 1997). Özellikle, gıda endüstrisinde antimikrobiyal olarak koruma sağlamak, çeşitli gıdalarda tereyağı benzeri tat ve aroma oluşturmak, kimya endüstrisinde ise bütirik

polimerleri sentezlemek amacı ile kullanılmaktadır (Liu ve ark. 2006, Bilgin ve ark. 2014). Gıda endüstrisinde hazır besin maddelerinin tatlandırılmasında kullanılan metil bütiratın elma, etil bütiratın ananas, isoamil bütiratın ise armut meyvası tatlandırıcıları olarak kullanımı mevcuttur (Bilgin ve ark. 2014). Süt endüstrisinde ise saf asit formunda kullanılmaktadır (Sharpei 1985, Armstrong ve Yamazaki 1986). Bütirat esterlerinin meyve kokusunu artırıcı katkı ve parfüm üretimi için aromatik bileşikler olarak kullanımı da mevcuttur (Lefranc ve Cie 1923). Bütirik asit ve türevleri, (diğer bileşiklerle karışım halinde, örneğin selüloz ve asetik asit gibi) plastik malzemeler ve tekstil lif endüstrisinde önemli bir rol oynamaktadır (Playne 1985). Bir başka kullanımı ise, ilaç endüstrisinde veya β -hidroksibütirat formunda, biyolojik olarak parçalanabilir polimerlerin üretimi için hammadde olarak kullanımıdır (Van den Heuvel ve ark. 1992). Ayrıca metal temizlemesi, kağıt endüstrisi ve tekstil sanayiinin yanı sıra selüloz nitratin aglomerasyonunda ve jelatin üretiminde yaygın olarak kullanımı mevcuttur (Bilgin ve ark. 2014). Bütirik asit elde edilmesinde çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Bu yöntemlerden bir tanesi, oksosentez ile propilenden elde edilen bütiraldehitin oksidasyonu ile bütirik asitin hazırlanmasıdır (Pryde 1978). Fakat, bu ürün doğal kaynaklı bir ürün değildir. Diğer bir yöntem ise, tereyağından bütirik asit elde edilmesidir (Zigova ve Šturdik 2000). Bütirik asitin tereyağındaki konsantrasyonu %2 ile %4 arasında değişmektedir. Bu tür prosedürlerin zor ve pahalı olduğu açıktır ve kimyasal alternatifle rekabet edememektedir (Druaux 1997, Zigova ve Šturdik 2000). Ancak, tüketicilerin doğal katkı maddeler içeren gıda katkı maddelerini veya farmasötik

ürünleri tercih etmelerinden dolayı doğal kaynaklardan bütirik asit üretimi çoğunlukla tercih edilmektedir. Doğal kaynaklardan elde edilen bütirik asit 'daha sağlıklı' kabul edilmektedir. Bu konuda müşteri doğal ürünler için daha fazla ödeme yapmayı kabul etmektedir. Doğal kökenli bütirik asidin üretimi için geçerli olan, iyi bilinen alternatif yöntemlerden bir diğeri ise fermantasyon teknolojisidir (Zigova ve Šturdik 2000). Fermantasyon yoluyla üretim, gıda üreticileri tarafından tercih edilen doğal bütirik asit üretimi için yararlı bir yoldur (Dziedzak 1986). Biyolojik kütleden bütiratın ekonomik olarak üretilmesi için, fermantasyonda yüksek bütirat verimi, konsantrasyon ve reaktör üretkenliği elde edilmesi kritik önem taşır. Glikoz (Crabbendam ve ark. 1985, Van Andel ve ark. 1985, Michel-Savin ve ark. 1990, Wu and Yang 2003, Liu ve ark. 2006), ksiloz (Liu ve Yang 2006), sükröz (Vandák ve ark.1995), peyniraltı suyu (Alam ve ark. 1988), mısır lifinin hidrolizi (Zhu ve ark. 2002), mısır unu (Huang ve ark. 2002) ve buğday unundan (Fayolle ve ark.1990) bütirik asitin biyolojik üretimi için birkaç fermantasyon prosesi araştırılmıştır (Fayolle ve ark. 1990, Jiang ve ark. 2009). Genel

olarak, karbon kaynağı diğeri orta bileşenlere kıyasla nispeten daha yüksek konsantrasyonda kullanılır ve bu da hammadde maliyetinde yüksek paya sahip olmasına neden olmaktadır. Bu nedenle, ucuz, yenilenebilir karbon kaynaklarının kullanımı teşvik edilmektedir (Jiang ve ark. 2009).

Fermantasyon teknolojisinde bütirik asit üreten birkaç bakteri türü bulunur. Üretim süreci anaerobik bir süreçtir ve üreticiler *Clostridium*, *Butyrivibrio*, *Butyribacterium*, *Sarcina*, *Eubacterium*, *Fusobacterium* ve *Megasphaera* cinsine ait anaerobik mikroorganizmalardır (Playne 1985, Sneath 1986). Ticari amaçlar için *Clostridium* türleri tercihen bütirik asit veya bütanol üretimi için kullanılır. Bu suşun iki paralel metabolik yolu vardır. İlk yolun ürünleri asitlerdir (bütirat ve asetat). Bu yola "asidogenez" adı verilir ve ikinci yolun ürünleri (solventogenesis) ise çözücülerdir (bütanol ve aseton) (Zigova ve Šturdik 2000). Maya veya bazı bakterilerle (*Gluconobacter*, *Acetobacter*) alkollerin asitlere biyotransformasyonu ise bütirik asit üretimi için bir başka yöntemdir (Zigova ve Šturdik 2000).



Şekil 2. Bütirik asitin molekül formülü (Spina ve ark. 2007).

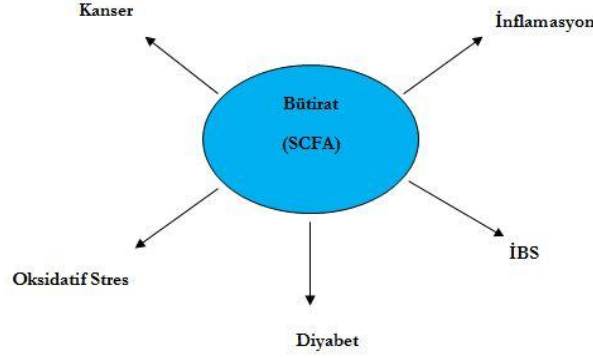
Figure 2. Butyric acid molecule formula (Spina ve ark. 2007).

Bütirik Asitin Sağlık Üzerine Etkileri

Kolonik epitel hücrelerinin ana enerji kaynağını oluşturan kısa zincirli yağ asitlerinden biri olan bütirik asit, bir enerji substratı olarak rolü ve epitel hücreleri üzerinde ve genel olarak kolonik mukozaya uyguladığı çok sayıda başka faaliyet nedeniyle kolonik epitel hücreleri için en önemli yağ asidi olarak düşünülmektedir (Spina ve ark. 2007). Bu madde, diyetteki varlığı son derece yararlı olabilen sayısız esansiyel olmayan besleyici maddelerden biridir (Smith ve ark. 1998). İnce bağırsakta sindirimden kaçan diyet lifleri, kompakt olarak kalın bağırsağa ulaşır ve kısa zincirli yağ asitleri, özellikle önemli sağlık yararları olan bütirat, üretmek için bakteriyel fermantasyona girer (Raman ve ark. 2016). Normal deneklerin kolonlarında günde yaklaşık 5 gram

bütirik asit üretilir. Kolondan üretilen bütirik asitin yaklaşık %70-90' ı kolonositlerce metabolize edilir ve oksijen tüketiminin %70' ine neden olur (Zoran ve ark. 1997, Basson ve ark. 2000, Della Ragione ve ark. 2001, Spina ve ark. 2007).

Bütirik asitin birçok hastalığın modülasyonunda önemli bir rol oynadığı bildirilmektedir (Kumar 2002). Birçok bağırsak hastalığı, kolondaki düşük bütirik asit konsantrasyonları ile karakterize edilir (Spina ve ark. 2007). Kolonik epitel tarafından bozulmuş bütirik asit absorpsiyonu, bağırsaktaki çeşitli hastalıklarla yakından ilişkilidir (Smith ve ark. 1998). Yapılan araştırmalar bütirik asitin insan bağırsak sağlığı üzerine bir takım faydalı etkilerini ortaya çıkarmıştır (Hamer 2009). Bu çalışmalar kolonik lümende üretilen bütirattan etkilenebilecek farklı alanların bulunduğunu bildirmektedir (Şekil 3).



Şekil 3. Kolonik bütirattan etkilenebilecek farklı alanlar.
Figure 3. Different areas which can be affected by colonic butyrate.

Kolon Kanseri

Kolorektal kanser, dünyada kansere bağlı mortalitenin en yaygın nedenlerinden biridir (Jemal ve ark. 2010). Bu kanser, vücudun diğer bölgelerine istila veya yayılım yapan hücrelerin anormal büyümesine bağlı olarak kolondaki veya rektumdaki (kalın bağırsak) kanserdir (Raman 2016). Kolorektal kanser, aşamalı olarak genetik ve epigenetik değişikliklerle ortaya çıkar ve normal bağırsak mukozasının invaziv kansere dönüşmesine yol açar (Arends 2013). Düşük fiziksel aktivite seviyeleri, sigara, alkol tüketimi, obezite, diyet liflerinin düşük alınımı ve yüksek et tüketimi gibi genetik ve çevresel faktörleri içeren kolorektal kanser ile ilgili birçok faktör ilişkilendirilmiştir (Raman 2016). Diyet, kolorektal kanser etyolojisinde önemli bir rol oynamaktadır (Gill ve Rowland 2002). Kısa zincirli yağ asitleri, kolorektal kanser için bağırsak-mikroflora ile ilişkili biyobelirteç olarak düşünülmüştür.

Bütiratın insan bağırsak sağlığı üzerine önerilen yararlı etkilerinden birisi de sık görülen kolon karsinogenezinin önlenmesi ve inhibisyonudur (Hamer 2009). Kısa zincirli yağ asitleri, kolon karsinogenezinin önlenmesinde ek bir mekanizmadır. Kısa zincirli yağ asitlerinin, özellikle bütiratın, kolon kanserini hafiflettiği bildirilmektedir (Raman 2016). Bütirik asidin kolorektal kansere karşı terapötik etkileri olduğu bilinmektedir (Willims ve ark. 2003). Özellikle, nükleer yapı üzerinde değişiklik yapma becerisi ve kolon kanseri hücrelerinde apoptoz ile ölüme neden olma özelliği büyük ilgi uyandırmaktadır. Çalışmaların çoğunda bütirik asitin kolon kanserine karşı faydalı olduğu bulunmuştur (Smith ve ark. 1998).

Bütirik asitin antikanser ajanı olarak insan denemelerinde kullanılması fikri ilk defa 1983' ün başlarında ortaya atılmıştır (Novogrodsky 1983).

Bütirik asit hücreleri ayırt etme yeteneği nedeniyle kanser tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. Bütirik asite olan ilginin artışı, apoptozu indüklediği keşfedildiğinden beri artmıştır (Smith ve ark. 1998). Bütirat, hücre farklılaşmayı teşvik etmesi yanında (Vernia 2007), hücre proliferasyon ve diferansiyasyonunun düzenlenmesinde de etkili bir rol oynar (Roediger 1980, Roediger 1982, Topping ve Clifton 2001, Roberfroid 2005). Kolon kanserinde apoptoz ile nükleer yapıyı değiştirme ve hücre ölümünü indükleme kabiliyeti bulunmaktadır (Kumar 2002). Sodyum bütirat birçok hücre tipinde antiproliferatif bir etki gösterir ve bütiratın kolon kanseri ve adenoma gelişimi üzerine önleyici etkileri olduğunu gösteren hayvan ve hücre hattı çalışmalarından elde edilen kanıtlar bulunmaktadır (Bornet ve ark. 2002). Bütiratın kolit ortamında kolorektal kanser ortaya çıkma riskini azalttığı bildirilmektedir (D'Argenio ve ark. 2007). Bütirik asitin, çeşitli doku türlerinde apoptozu indüklediği bildirilmektedir (Smith ve ark. 1998). Bütiratın kolorektal tümör hücre dizilerinde apoptozu indükleme yeteneğinin asetat ve propiyonattan daha fazla olduğu bildirilmiştir (Hague 1995, Scheppach 1995). Bütirat ayrıca kanser hücrelerinin immünojenitesini de uyarır (Perrin ve ark. 1994). Düşük konsantrasyonda bile bütiratın kolorektal adenoma ve karsinoma hücrelerine karşı sitotoksik olduğu fark edilmiştir (Augeron ve Laboisie 1984, Berry ve Paraskeva 1988). Bütiratın gelişmiş gastroentestinal sağlığa sahip epitel hücrelerinin normal gelişimi ve insanlarda kolon kanseri insidansının azalması için önemli olduğu düşünülmektedir (Brouns ve ark. 2002). Bütirik asit, hücrelerin farklılaşma durumunu değiştirebilir ve kanserli kolonik hücrelerin normal programlanmış hücre ölümlerine karşı direncini yener (Smith ve ark.

1998). Bütirik asidin kolorektal kanser ve hemoglobino patilere karşı terapötik etkileri olduğu bilinmektedir (Willims ve ark. 2003). Bütirik asitin, azalmış lif alımı ile ilişkili bağırsak kanseri insidansını azaltma potansiyeli olduğu da gösterilmiştir (Riggs ve ark. 1977, Calabresse 1993).

İnflamasyon

Kronik inflamatuvar bağırsak hastalıkları ülseratif kolit ve Crohn hastalığı olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Oktay 2001). Ülseratif kolit, kalın barsağın iç yüzeyini etkileyen kronik iltihabi hastalıktır. Crohn hastalığı ise ağızdan anüse kadar gastrointestinal sistemin tüm kısımlarında ama daha çok, ince barsağın son kısmı ve kalın barsakta yerleşir ve ülseratif kolitin aksine barsak duvarının tüm tabakalarını etkileyen bir iltihap oluşturur (Anonim 2015c). Bütirik asit, mukozal iyileşmede önemli rol oynar ve inflamasyon giderici özelliği vardır (Roda ve ark. 2007, Anonim 2015b). Bütirat iltihaplanmayı en aza indirmeye, immünomodülatör etkiler sergilemektedir (Raman 2016). İnflamatuvar bağırsak hastalıklarında bütiratın potansiyel terapötik etkilerinin olduğu bildirilmektedir (Vernia 2007). İnflamatuvar bağırsak hastalıklarında bütiratın çeşitli mekanizmalar yoluyla çeşitli seviyelerde mukozal inflamatuvar yanıtı modüle etme kabiliyeti önemlidir (Segain ve ark. 2000, Luhrs ve ark. 2002). Bütirat mukus üretimini uyarır ve kısmen mukozal lezyonların tamirinde ve yeniden epitelizasyonunda, fibrin ve fibronektin gibi matriks içindeki çeşitli protein molekülleri arasındaki bağ oluşumunu destekleyen koagülasyon faktörü XIIa' ya benzer enzimlerin kısmen doku transglütaminazlarının aracılık ettiği mekanizmalar vasıtasıyla anahtar rol oynar (D'Argenio ve ark. 1994). Mukus üretimi ve üretilen mukus türü ile ilgili Gaudier ve ark. (2004) tarafından fizyolojik konsantrasyonlarda (2-5 mM/l) son derece ilginç bulgular yayınlanmıştır; Bütirat bağırsak mukus üretimini kontrol eden genlerin, ekspresyonunu artırır. Bu artış, tek tek veya bir karışım halinde diğer kısa zincirli yağ asitleri tarafından indüklenen değerden önemli derecede fazladır (Vernia 2007). Lümende bütirat eksikliği akut/kronik inflamasyon ile birlikte mukozal hipoplaziye neden olabilmektedir (Butzner ve ark. 1994, Scheppach ve ark. 1997). Bütirat, klinik uygulamalarda, kolonun inflamatuvar bağırsak hastalıklarında incelenmiştir (Vernia 2007). Normal kolonositlerin enerji temininin ve metabolik düzenlenmesinin temel işlevlerine ek olarak, bütirik asit ayrıca kolondaki inflamatuvar süreçler üzerinde bir takım faydalı etkileri de ortaya koymaktadır (Velazquez 1997, Wachtershauser ve Stein 2000). Tıbbi uygulamada, bütirat kolonik inflamasyon için potansiyel bir terapötik madde olarak önerilmiştir (Wachtershauser ve Stein 2000). Bütiratın deneysel kolitte inflamasyonu azalttığı ve normal kolonositlerde in vitro trofik ve anti-inflamatuvar

etkileri indüklediği gösterilmiştir (Butzner ve ark. 1996, Wollowski ve ark. 2001). Bundan başka, bütiratın esas olarak, bir transkripsiyon faktörü olarak hareket ederek inflamasyonu kontrol eden nükleer faktör kappa B' nin (NF- κ B) inhibisyonu yoluyla anti-inflamatuvar özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (Segain ve ark. 2000). Ülseratif kolitten mustarip hastalardaki kolonik epitelde bütirik asit oksidasyonunun bozulduğunu gösteren kanıtlar mevcuttur (Roediger 1980, Chapman ve ark. 1994). Bütirik asit, ülseratif kolitte potansiyel olarak yararlı olan diğer etkilerde bulunur. Bu gibi etkiler, mukozal onarım süreçlerinde ve mukozal geçirgenliğin azaltılmasında merkezi bir rol, transglutaminaz üretiminde artış, fibrinoliz inhibisyonu ve ürokinaz aktivitesinde azalma gösterir (D'Argenio 1990, D'Argenio 1993, Vernia ve ark. 1995). Ülseratif kolitli hastalarda sülfat indirgeyen bakterilerin ürettiği sülfür, mukozadaki üst kripterlerin hiperproliferasyonuna neden olur. Bütirat, sülfür kaynaklı patogenetik etkiyi tersine çevirmektedir (Christl ve ark. 1996). Ülseratif kolitte, bütirat standart ilaçların tamamlayıcı terapötik etkisini uygular (Vernia 2007). Kısa zincirli yağ asitleri lavmanları, özellikle bütirat, ayrıca diversiyon ve ülseratif kolit de dahil olmak üzere bağırsak iltihabı için olası bir tedavi olarak kullanılmıştır (Wong ve ark. 2006). Bütirik asit sindirim sisteminde görülen Crohn hastalığına sahip hastaların tedavisinde de kullanılmaktadır (Anonim 2015b). Yapılan bir çalışmada hafif-orta şiddette Crohn hastalığında bağırsak inflamasyonunda remisyon veya iyileşme sağlamak için oral yoldan verilen bütiratın etkinliğini analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda bütiratın verilmesinin güvenli ve iyi tolere edilebilir olduğunu, hafif-orta derecede Crohn hastalığında klinik düzelleme veya remisyon oluşturmada etkili olabileceğine ve bütiratın, özellikle ileum ve körbağırsakta hafif-orta Crohn hastalığında endoskopik ve histolojik iyileşmeye neden olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca bütiratın, bazı sitokinlerin mukozal seviyelerini düşürerek anti-inflamatuvar etkinlik uyguladığı da bildirilmiştir (Di Sabatino ve ark. 2007).

Oksidatif Stres

Oksidatif stres hem inflamasyonda hem de karsinogenezin başlatılması ve ilerlemesi sürecinde yer almaktadır (Skrzydewska ve ark. 2005, Rezaie ve ark. 2007). Oksidatif stres, reaktif oksijen ve reaktif azot türleri ile antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengesizliğin sonucudur; bu da lipidlerin, proteinlerin ve DNA' nın hasar görebileceği bir dizi reaksiyon meydana getirir (Hamer 2009). Bağırsak epitelinde oksidatif stresin artmasının, bağırsak epitel hücrelerinin mukozal bariyer fonksiyonunu bozarak permeabilitenin artmasına neden olduğu bildirilmektedir (D'Argenio ve ark. 2007).

Bütirat, kimyasal yapısı nedeniyle serbest radikalli bir süpürücü gibi davranmadığından, bütiratın birincil antioksidan kapasitesi düşüktür. Bununla birlikte bütirat, DNA onarım sistemlerini ve enzimatik veya enzimatik olmayan antioksidan seviyelerini etkileyerek ikincil bir antioksidan görevi görebilmektedir (Hamer ve ark. 2009).

Bütiratın oksidatif stresi modüle edebileceğine dair bazı kanıtlar vardır. Yapılan iki çalışmada, izole edilen sıçan veya insan kolonositlerinin bütirat ile ön inkübasyonunda H₂O₂ (hidrojen peroksit) kaynaklı DNA hasarında belirgin bir azalma olduğu gösterilmiştir (Abrahamse ve ark. 1999, Rosignoli ve ark. 2001). Bütiratın çeşitli oksidatif hasar ve antioksidan savunma parametreleri üzerine olan etkilerinin, sağlıklı gönüllülerin insan kolonik biyopsilerinde değerlendirildiği bir çalışma sonucunda, bütiratın sağlıklı insan kolonunda oksidatif stresini faydalı bir şekilde etkileyebileceği bildirilmiştir (Hamer ve ark. 2009).

İrritabl Bağırsak Sendromu (İBS)

İrritabl bağırsak sendromu (İBS), karın ağrısı ve bozulmuş bağırsak hareketleri ile karakterize, biyokimyasal ve strüktürel herhangi bir bozukluk tespit edilemeyen bir bağırsak hastalığıdır (Anonim 2015d). Bir dizi çalışma, kolonik kısa zincirli yağ asitleri üretimi ile iritabl bağırsak sendromu arasında muhtemel bir ilişki olduğunu göstermiştir (Mortensen ve Clausen 1996). Özellikle, diyare-baskın İBS olan hastalarda toplam dışkı kısa zincirli yağ asitleri konsantrasyonları azaldığı ve konstipasyon baskın İBS'li hastalarda ise arttığı bildirilmiştir (Treem ve ark. 1996). Bu nedenle, azalmış kısa zincirli yağ asitleri konsantrasyonlarının, İBS hastalarında diyare fenotipinden sorumlu olabileceği bildirilmektedir (Scarpellini ve ark. 2007). İBS tedavisinde bütiratın etkinliğini değerlendirme amacıyla gerçekleştirilen bir çalışma sonucunda bütirik asidin birtakım gastrointestinal hastalıklarda etkili olduğu ayrıca ishal-baskın İBS hastalarının tedavisinde etkili olduğu bildirilmiştir (Scarpellini ve ark. 2007).

Diyabet

Bütirik asitin, idrar şekeri, açlık kan şekeri ve diğer çeşitli parametreler açısından diyabetik durumu iyileştirebileceği bildirilmektedir (Kumar ve ark. 2002). Bütirik asidin diyabetik durumun hafifletilmesi üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, sıçanlar çözülme bir diyet lifi kaynağı olarak buğday kepeği (%5) ve çözülebilir bir diyet lifi kaynağı olarak guar gum (%2,5) içeren bazal diyetle beslenmiş ve bu deney grubuna 250, 500 ve 750 mg/kg vücut ağırlığı/gün bütirik asit verilmiştir. Diyabetik hayvanlar yüksek diyet tüketimine rağmen kilo vermiştir. Diyabetik durum esnasında su alımı, idrar çıkışı, idrar şekeri, açlık kan şekeri seviyeleri kontrol grubuna kıyasla artmış ve bunlar lifle beslenen

diyabetik grupta yaklaşık %20 oranında azalmıştır. 500 mg/kg vücut ağırlığı/gün bütirik asidin daha fazla takviyesi diyabetik durumu yaklaşık %40 oranında iyileştirmiştir. Diyabetik dönemde idrar şekeri seviyesi 7.2 g/gün'den 3.6 g/gün'e, açlık kan şekeri seviyesi 270 mg/dl'den 180 mg/dl'ye düştüğü görülmüştür. Diyabetik durumun kontrolünde en iyi sonucun 500 mg/kg vücut ağırlığı/gün doz ile sağlandığı bildirilmiştir. Çalışma sonucunda, bütirik asitin çeşitli diğer parametreler yanında diyabet ve iyileşmiş idrar şekeri, üriner hacim ve kan şekeri seviyelerinde faydalı rol oynadığını net bir şekilde gösterdiği ve diyabetik komplikasyonların hücresel ve moleküler seviyelerde önlenmesinde de yararlı olabileceği bildirilmiştir (Kumar ve ark. 2002). Bütirik asit türevleri de farklı fonksiyonel özelliklere sahiptir (Kumar ve ark. 2002). Ohta ve ark. (1999)'nın yaptığı bir çalışmada, bütirik asitin türevlerinden birinin-JTT-608' in (4-trans-4-metil sikloheksil-4-0-oksobütirik asit)- diyabetik sıçanlarda glikoz seviyelerini seçici olarak azalttığı gösterilmiştir.

Bütirik Asit ve Süt Yağı İlişkisi

Süt yağı farklı sayıdaki yağ asitleri ve zincir uzunlukları tarafından karakterize edilir. Süt yağında, dört karbon atomlu bütirik asit ile 26 karbon atomlu yağ asidi arasında değişen, 400' den fazla farklı yağ asitleri ve yağ asidi türevleri tespit edilmiştir (Jensen 1995, German ve Dillard 1998, Jensen ve Lammi-Keefe 1998). Süt yağının benzersiz bir özelliği, süt yağındaki başlıca yağ asitlerinin %3 den daha fazla bir seviyede bulunan bütirik asit varlığıdır (Jensen ve Kroger 2000). Başka bilinen hiçbir gıda bu dört karbonlu kısa zincirli yağ asidi içermez (Jensen ve Kroger 2000). İnsan vücudunda bütirik asit, sindirim sistemi lif fermantasyonundan türetilmiştir (Jensen ve Kroger 2000). Son araştırma bulguları bütirik asidin bazı kanser türlerine karşı koruyabileceğini göstermektedir (Smith ve German 1995, Aukema ve ark. 1997, Parodi 1997). Çeşitli kanser hücre çizgilerini (kolon, lenf, meme) bütirat çoğalmasını inhibe eder ve farklılaşma ve programlanmış hücre ölümüne sebep olur. Moleküler düzeyde ele alındığında bütirat, azaltarak düzenleme ile ya da kanser genlerinin inaktivasyonu ile bağlantılıdır (Smith ve German 1995, Parodi 1997). Bütirat ayrıca tümör invazivliği ve metastası inhibe edebilir (Smith ve German 1995, Parodi 1997).Gelişen bilimsel bulgular, süt yağının, konjuge linoleik asit (CLA), sfingomyelin, bütirik asit ve miristik asit gibi çeşitli bileşenler içerdiğinden potansiyel olarak önemli kronik hastalıklara karşı koruyabileceğini göstermektedir (Jensen ve Kroger 2000).Laurik, miristik, palmitik asitler gibi uzun zincirli doymuş yağ asitleri, , toplam kan ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL ya da "kötü") kolesterolü seviyelerini yükseltirken, stearik asit ve bütirik, kaproik, kaprilik gibi kısa-zincir doymuş yağ asitleri ve kaprik asitler ya nötr bir etkiye sahiptirler yada kan kolesterol

düzeylerini düşürürler (Katan ve ark. 1995, Krauss ve ark. 1996). Peynirin süt yağ içeriği esas olarak bu besinlerin tokluk değeri, lezzeti ve dokusundan sorumludur. Kürlenme veya olgunlaşma esnasında, peynirdeki süt yağının, belirli bir miktarda hidrolizden geçmesi, uçucu yağ asitlerinin (örn: bütirik, kaproik ve kaprilik asitlerin ve daha yüksek karbon zincirli yağ asitlerinin) serbest bırakılmasına neden olur ve bu da peynir lezzetine katkıda bulunur (Jensen ve Kroger 2000).

SONUÇ

Kolonik bütirik asitin, insan sağlığında önemli bir rol oynadığına ve bazı hastalıklara karşı koruyucu etkisi yanında, tedavi edici etkilerinin de olduğuna dair çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Süt yağı kaynaklı bütirik asitin de in vitro ve deneysel hayvan çalışmalarına göre kolon kanserine karşı koruma sağlayabileceği bildirilmektedir. Fakat, süt yağı kaynaklı bütirik asit, üst gastrointestinal sistemde serbest bırakılır ve hemen emilir, işlenir ve metabolize olduğu karaciğere nakledilmek için dolaşıma bırakılır. Bu yüzden, süt yağı kaynaklı bütirik asitin, kalın bağırsağa ulaşmadığı için, kolonik bütirik asidin aksine, kansere karşı koruyucu bir rol oynayıp oynamadığı bilinmemektedir. Bu nedenle, süt yağı kaynaklı bütirik asitin sağlık üzerindeki etkilerini inceleyen ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Abrahamse SL, Pool-Zobel BL, Rechkemmer G.** Potential of short chain fatty acids to modulate the induction of DNA damage and changes in the intracellular calcium concentration by oxidative stress in isolated rat distal colon cells. *Carcinogenesis*. 1999;20:629–34.
- Alam S, Stevens D, Bajpai R.** Production of butyric acid by batch fermentation of cheese whey with *Clostridium beijerinckii*. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. 1988; 2(6):359-364.
- Anonim2015a.** <http://nutriad.com/2015/01/butyrate-feeding-the-gut-and-beyond-for-animal-health-2/>; Erişim tarihi: 01.03.2017.
- Anonim2015b.** http://sanitasaglik.com/articles/24_09_2012_10_36_22.pdf Erişim tarihi: 01.03.2017.
- Anonim2015c.** <http://www.drahmetdobrucali.com/hastaliklar/inflamatuvar-barsak-hastaliklari/>; Erişim tarihi: 01.03.2017.
- Anonim2015d.** <http://www.turkiyeklinikleri.com/article/en-irritabl-bagirsak-sendromu-62364.html>; Erişim tarihi: 01.03.2017.

- Arends MJ.** Pathways of colorectal carcinogenesis. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2013;21:97–102.
- Armstrong DW, Yamazaki H.** Natural flavours production: a biotechnological approach. *Trends in Biotechnology*. 1986;4:264-268.
- Augeron C, Laboisse CL.** Emergence of permanently differentiated cell clones in a human colonic cancer cell line in culture after treatment with sodium butyrate. *Cancer Res*. 1984;44:3961.
- Aukema HM, Davidson LA, Pence BC, Jiang Y.-H, Lupton JR, Chapkin RS.** Butyrate alters activity of specific CAMP-receptor proteins in a transgenic mouse colonic cell line. *J. Nutr*. 1997;127:18.
- Basson R, Berman J, Burnett A, Derogatis L, Ferguson D, Fourcroy J et al.** Report of the international consensus development conference on female sexual dysfunction: definitions and classifications. *J Urol*. 2000;163(3):888–893.
- Bergman EN.** Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiol Rev*. 1990;70:567-90.
- Berry RD, Paraskeva C.** Expression of carcinoembryonic antigen by adenoma and carcinoma-derived epithelial cell lines: possible marker of tumour progression and modulation of expression by sodium butyrate. *Carcinogenesis*. 1988;9:447.
- Bilgin M, Kırbaşlar Ş, Özcan Ö, Dramur U.** Bütirik asidin ekstraksiyonunda çözücü seçimi, *ukmk11*, 2014.
- Bornet FR, Brouns F, Tashiro Y, Duveillier V.** Nutritional aspects of shortchain fructooligosaccharides: natural occurrence, chemistry, physiology and health implications. *Dig Liver Dis*. 2002;34(2):111–120.
- Brouns F, Kettlitz B, Arrigoni, E.** Resistant starch and “the butyrate revolution”. *Trends in Food Science & Technology*. 2002;13(8):251-261.
- Butzner JD, Parmar R, Bell CJ, Dalal V.** Butyrate enema therapy stimulating mucosal repair in experimental colitis in rat. *Gut*. 1996;38:568–573.
- Butzner JD, Parmar R, Bell CJ, Dalal V.** Butyrate enema therapy stimulates mucosal repair in experimental colitis in the rat. *Gut*. 1996;38:568–73.
- Calabresse C, Venturini L, Ronco G, Villa P, Chomienne C, Belpomme D.** Butyric acid and its monosaccharide ester induce apoptosis in the HL-60 cell line. *Biochemical and*

biophysical research communications. 1993;195(1):31-38.

- Canani RB, Costanzo D, Leone L, Bedogni G, Brambilla P, Cianfarani S, Nobili V, Pietrobelli A, Agostoni C.** Epigenetic mechanisms elicited by nutrition in early life. *Nutr Res Rev.* 2011; 24(2):198–205.
- Chapman MA, Grahn MF, Boyle MA, Hutton M, Rogers J, Williams NS.** Butyrate oxidation is impaired in the colonic mucosa of sufferers of quiescent ulcerative colitis. *Gut.* 1994;35:73.
- Christl SU, Eisner HD, Dusel G, Kasper H, Scheppach W.** Antagonistic effects of sulfide and butyrate on proliferation of colonic mucosa. *Digestive diseases and sciences.* 1996;41(12):2477-2481.
- Clausen MR, Tvede M, Mortensen PB.** Short-chain fatty acids in pouch contents from patients with and without pouchitis after ileal pouch-anal anastomosis. *Gastroenterology.* 1992; 103(4):1144-1153.
- Crabbendam PM, Neijssel OM, Tempest DW.** Metabolic and energetic aspects of the growth of *Clostridium butyricum* on glucose in chemostat culture. *Arch. Microbiol.* 1985;142(4): 375–382.
- Cummings JH, Antoine JM, Azpiroz F, Bourdet-Sicard R, Brandtzaeg P, Calder PC, Gibson GR, Guarner F, Isolauri E, Pannemans D, Shortt C, Tuijtelaars S, Watzl B.** PASSCLAIM--Gut health and immunity. *Eur J Nutr.* 2004;43(2):ii118-ii73.
- D'Argenio G, Ciacci C, Sorrentini I, Iovino P, Gatto A, Cosenza V, Mazzacca G.** Serum transglutaminase in inflammatory bowel diseases, *J. Clin. Gastroenterol.* 1990;12:400.
- D'Argenio G, Cosenza V, Sorrentini I, De Ritis F, Delle Cave M, Della Valle N, Lombardi G, Mazzacca G.** Sodium butyrate, 5-ASA and intravenous factor XIII therapies in experimental colitis in the rat, *Proc. Falk. Symp. (Strasbourg).* 1993;73.
- D'Argenio G, Cosenza V, Sorrentini I, De Ritis F, Gatto A, Delle Cave M et al.** Butyrate, mesalamine, and factor XIII in experimental colitis in the rat: effects on transglutaminase activity. *Gastroenterology.* 1994;106:399–404.
- D'Argenio G, Mazzone, G, Caporaso N.** Butyrate in the treatment of experimental models of colitis. *Digestive and Liver Disease Supplements.* 2007;1(1),13-17.
- Della Ragione F, Criniti V, Della Pietra V, Borriello A, Oliva A, Indaco S et al.** Genes modulated by histone acetylation as new effectors of butyrate activity. *FEBS Lett.* 2001;499:199–204.
- Di Sabatino A, Cazzola P, Ciccocioppo R, Morera R, Biancheri P, Rovedatti L, Cantoro L, Vanoli A, Tinozzi FP, Tinozzi S, Corazza, G. R.** Efficacy of butyrate in the treatment of mild to moderate Crohn's disease. *Digestive and Liver Disease Supplements.* 2007;1(1):31-35.
- Druaux D, Mangeot G, Endrizzi A, Belin JM.** Bacterial bioconversion of primary aliphatic and aromatic alcohols into acids: effects of molecular structure and physico-chemical conditions. *J Chem Technol Biotechnol.* 1997;68:214–218.
- Duncan M, Davison JS, Sharkey KA.** Endocannabinoids and their receptors in the enteric nervous system. *Aliment Pharmacol Ther.* 2005; 22(8):667–683.
- Dziedzic JD.** Biotechnology and flavor development: an industrial research perspective. *Food Technol.* 1986;40:108–20.
- Fayolle F, Marchal R, Ballerini D.** Effect of controlled substrate feeding on butyric acid production by *Clostridium tyrobutyricum*. *J. Ind. Microbiol.* 1990;6:179–183.
- Gasbarroni A, Lauritano EC.** Foreword. *Digestive and Liver Disease Supplements.* 2007;1(1):1.
- Gaudier E, Jarry A, Blottière HM, Aubert JP, Laboisse C, Cherbut C et al.** Butyrate specifically modulates MUC gene expression in intestinal epithelial goblet cells deprived of glucose. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2004;287:G1168–74.
- German JB, Dillard CJ.** Fractionated milk fat: composition, structure, and functional properties. *Food Technol.* 1998;52:33.
- Gill CI, Rowland IR.** Diet and cancer: assessing the risk. *Br J Nutr.* 2002;88(1):73–87.
- Hague A, Elder DJ, Hicks DJ, Paraskeva C.** Apoptosis in colorectal tumour cells: induction by the short chain fatty acids butyrate, propionate and acetate and by the bile salt deoxycholate. *Int J Cancer.* 1995;60:400–406.
- Hamer HM, Jonkers DM, Bast A, Vanhoutvin SA, Fischer MA, Kodde A, Troost FJ, Venema K, Brummer RJM.** Butyrate modulates oxidative stress in the colonic mucosa of healthy humans. *Clinical Nutrition.* 2009;28(1):88-93.

- Hamer HM.** Short chain fatty acids and colonic health. Thesis, Universiteit Maastricht, Holland, 2009.
- Hamer HM.** Short chain fatty acids and colonic health. Thesis, Universiteit Maastricht, Holland, 2009.
- Huang YL, Wu Z, Zhang L, Cheung CM, Yang ST.** Production of carboxylic acids from hydrolyzed corn meal by immobilized cell fermentation in a fibrous-bed bioreactor. *Bioresource technology.* 2002;82(1): 51-59.
- Jacobs LR.** Relationship between dietary fiber and cancer: metabolic, physiologic, and cellular mechanisms. *Experimental Biology and Medicine.* 1986; 183(3): 299-310.
- Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E.** Cancer statistics. *CA: a cancer journal for clinicians.* 2010;60(5):277-300.
- Jensen RG, Kroger M.** The importance of milk and milk products in the diet. *Handbook of dairy foods and nutrition.* 2000;1-64.
- Jensen RG, Lammi-Keefe CJ.** Current status of research on the composition of bovine and human milk lipids, in *Lipids in Infant Nutrition*, Huang, Y.S., and Sinclair, A.J., Eds; AOCS Press, Champaign, IL, 168-191, 1998.
- Jensen RG.** *Handbook of Milk Composition*, Academic Press, New York, 1995.
- Jiang L, Wang J, Liang S, Wang X, Cen P, Xu Z.** Butyric acid fermentation in a fibrous bed bioreactor with immobilized *Clostridium tyrobutyricum* from cane molasses. *Bioresource Technology.* 2009;100(13): 3403-3409.
- Katan MB, Zock PL, Mensink RP.** Dietary oils, serum lipoproteins, and coronary heart disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 1995;61(1):1368.
- Krauss RM, Deckelbaum RJ, Ernst N, Fisher E, Howard BV, Knopp RH, Kotchen T, et al.** Dietary guidelines for healthy Americans: a statement for health professionals by the Nutrition Committee. *American Heart Association.* 1996; *Circulation*, 94: 1795-1800.
- Kumar CM, Rachappaji KS, Nandini CD, Sambaiah K, Salimath PV.** Modulatory effect of butyric acid—a product of dietary fiber fermentation in experimentally induced diabetic rats. *The Journal of nutritional biochemistry.* 2002;13(9):522-527.
- Lefranc L, Cie E.** A process for the manufacture of butyric acid and other fatty acids with recovery of the gases of fermentation. *Br. Pat.* 1923;186:572.
- Lehninger AL, Nelson DL, Cox, MM.** *Principles of Biochemistry*, Ed;Worth, New York.1993.
- Levitt MD.** Malabsorption of starch: a normal phenomena. *Gastroenterology.* 1983; 85:769-770.
- Liu X, Zhu Y, Yang ST.** Butyric acid and hydrogen production by *Clostridium tyrobutyricum* ATCC 25755 and mutants. *Enzyme and Microbial Technology.* 2006; 38(3): 521-528.
- Liu XG, Yang ST.** Butyric acid and hydrogen production by *Clostridium tyrobutyricum* ATCC 25755 and mutants. *Enzyme Microb. Technol.* 2006;38:521-528.
- Liu XG, Zhu Y, Yang ST.** Kinetics of butyric acid fermentation of glucose and xylose by *Clostridium tyrobutyricum* wild type and mutant. *Process Biochem.* 2006;41:801-808.
- Luhrs H, Gerke T, Muller JC Melcher R, Schaubert J, Boxberge F et al.** Butyrate inhibits NF- κ B activation in lamina propria macrophages in patients with ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol.* 2002;37:458-66.
- Macfarlane S, Macfarlane GT.** Regulation of short-chain fatty acid production. *Proc Nutr Soc.* 2003;62:67-72.
- McIntosh GH, Leu RK, Royle PJ, Young GP.** A comparative study of the influence of differing barley brans on DMH- induced intestinal tumours in male Sprague- Dawley rats. *Journal of gastroenterology and hepatology.* 1996;11(2): 113-119.
- McIntyre A, Gibson PR, Young GP.** Butyrate production from dietary fibre and protection against large bowel cancer in a rat model. *Gut.* 1993;34(3):386-391.
- Michel-Savin D, Marchal R, Vandecasteele JP.** Control of the selectivity of butyric acid production and improvement of fermentation performance with *Clostridium tyrobutyricum*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1990; 32:387-392.
- Mortensen PB, Clausen MR.** short-chain fatty acids in the human colon: relation to gastrointestinal health and disease. *Scand J Gastroenterol.* 1996;216:132-48.
- Novogrodsky A, Dvir A, Ravid A, Shkolnik T, Stenzel KH, Rubin AL, Zaizov R.** Effect of polar organic compounds on leukemic cells. Butyrate-induced partial remission of acute myelogenous leukemia in a child. *Cancer.* 1983;51:9.
- Ohta T, Furukawa N, Yonemori F, Wakitani K.** JTT-608 controls blood glucose by

enhancement of glucose-stimulated insulin secretion in normal and diabetes mellitus rats. *European journal of pharmacology*.1999;367(1):91-99.

Oktay E. İnflamatuvar barsak hastalıkları: etyopatogenez, semptomatoloji, tanı ve komplikasyonlar. *Gastrointestinal Sistem Hastalıkları. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Sempozyum Dizisi*. 2001: 199-206.

Oltmer S, Engelhardt WV. Absorption of shortchain fatty acids from the in-situ-perfused caecum and colon of the guinea pig. *Scand J Gastroenterol*. 1994;29(11):1009–1016.

Parodi PW. Cows' milk fat components as potential anticarcinogenic agents. *J. Nutr*. 1997;127:1055.

Perrin P, Cassagnau E, Burg C, Patry Y, Vavasseur F, Harb J. et al. An interleukin 2/sodium butyrate combination as immunotherapy for rat colon cancer peritoneal carcinomatosis. *Gastroenterology*. 1994;107:1697–1708.

Playne MJ. Propionic and butyric acids, In: *Comprehensive Biotechnology*, Ed; Moo-Young, Pergamon Press, Oxford, UK, 1985; pp 731–759.

Playne MJ. Propionic and butyric acids. In: *Comprehensive Biotechnology*, Ed; Moo-Young M, Oxford, Pergamon Press, vol. 3, 198; 731–59.

Pouillart PR. Role of butyric acid and its derivatives in the treatment of colorectal cancer and hemoglobinopathies. *Life sciences*. 1998; 63(20): 1739-1760.

Pryde EM. Carboxylic acids (economic aspects), In: *Encyclopedia of Chemical Technology*. Ch 41, John Wiley and Sons, New York, 1978; pp 853–859.

Raman M, Ambalam P, Doble M. Probiotics and Bioactive Carbohydrates in Colon Cancer Management. Springer, 2016.

Rechkemmer G, Ronnau K, Engelhardt WV. Fermentation of polysaccharides and absorption of short chain fatty acids in the mammalian hindgut. *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol*. 1988; 90(4):563–568.

Rezaie A, Parker RD, Abdollahi M. Oxidative stress and pathogenesis of inflammatory bowel disease: an epiphenomenon or the cause? *Dig Dis Sci*.2007;52:2015–21.

Riggs MG, Whittaker RG, Neumann JR, Ingram VM. n-Butyrate causes histone modification

in HeLa and friend erythroleukaemia cells. *Nature*.1977; 268:462–463.

Roberfroid, MB. *Inulin-Type Fructans: Functional Food Ingredients*, CRC Press, 2005.

Roediger WE. Role of anaerobic bacteria in the metabolic welfare of the colonic mucosa in man. *Gut*. 1980;21:793–798.

Roediger WE. Role of anaerobic bacteria in the metabolic welfare of the colonic mucosa in man. *Gut*. 1980;21:793–798.

Roediger WE. The starved colon--diminished mucosal nutrition, diminished absorption, and colitis. *Dis Colon Rectum*. 1990;33:858-862.

Roediger WE. Utilization of nutrients by isolated epithelial cells of the rat colon. *Gastroenterology*. 1982;83:424-429.

Roediger WE. Utilization of nutrients by isolated epithelial cells of the rat colon. *Gastroenterology*. 1982;83:424-429.

Roediger WE. Colon and Nutrition, Ed; H. Kasper and H. Goebell , Lancaster Press, Falk Symposium, 1981;32 11-25.

Roediger WEW. The colonic epithelium in ulcerative colitis: an energy-deficiency disease? *Lancet*.1980;2:712.

Rombeau J, Kripke SA, Settle RG. Short-chain fatty acids: production, absorption, metabolism, and intestinal effects, In: *Dietary Fiber: Basic and Clinical Aspects*, Ed; David Kritchevsky, Plenum Press, New York, 1986; pp. 317–339.

Rosignoli P, Fabiani R, De Bartolomeo A, Spinozzi F, Agea E, Pelli MA, Morozzi G. Protective activity of butyrate on hydrogen peroxide-induced DNA damage in isolated human colonocytes and HT29 tumour cells. *Carcinogenesis*.2001;22:1675–80.

Scarpellini E, Lauritano EC, Lupascu A, Petruzzellis C, Novi ML, Roccarina D, Gabrielli M, Serricchio M, Gasbarrini G, Gasbarrini, A. Efficacy of butyrate in the treatment of diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome. *Digestive and Liver Disease Supplements*.2007;1(1):19-22.

Scheppach W, Bartram HP, Richter F. Role of short-chain fatty acids in the prevention of colorectal cancer. *Eur J Cancer*. 1995; 31A:1077–1080.

Scheppach W, Christl SU, Bartram HP, Richter F, Kasper H. Effect of short chain fatty acids on the inflamed colonic mucosa. *Scand J Gastroenterol*.1997;32:53–57

- Scheppach W, Fabian C, Ahrens F, Spengler M, Kasper H.** Effect of starch malabsorption on colonic function and metabolism in humans. *Gastroenterology*. 1988;95:1549–1555.
- Scheppach W, Sommer H, Kirchner T, Paganelli GM, Bartram P, Christl S, Richter F, Dusel G, Kasper H.** The effect of butyrate enemas on the colonic mucosa in distal ulcerative colitis. *Gastroenterology*. 1992;103(1):51–56.
- Segain JP, Raingeard D, Bourreille A, Leray V, Gervois N, Rosales C et al.** Butyrate inhibits inflammatory responses through NF- κ B inhibition: implications for Crohn's disease. *Gut*. 2000;47: 397–403.
- Segain JP, Raingeard de la Bl ti re D, Bourreille A, Leray V, Gervois N, Rosales C, Ferrier L, Bonnet C, Blotti re HM, Galmiche JP.** Butyrate inhibits inflammatory responses through NF κ B inhibition: implications for Crohn's disease. *Gut*. 2000;47:397-403.
- Sharpei FHJ.** Microbial flavours and fragrances, In: *Comprehensive Biotechnology*, Ed; HW Blanch, S Drew and DIC Wang. Pergamon Press, Oxford, UK, 1985; pp. 965-979.
- Skrzydewska E, Sulkowski S, Koda M, Zalewski B, Kanczuga-Koda L, Sulkowska M.** Lipid peroxidation and antioxidant status in colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2005;11:403–6.
- Smith CJ, Bryant MP.** Introduction to metabolic activities of intestinal bacteria. *Am J Clin Nutr*. 1979;32:149–57.
- Smith JG, German JB.** Molecular and genetic effects of dietary derived butyric acid. *Food Technol*. 1995;49:87.
- Smith JG, Yokoyama WH, German JB.** Butyric acid from the diet: actions at the level of gene expression. *Critical Reviews in Food Science*. 1998; 38(4): 259-297.
- Sneath PHA.** *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* 2. Baltimore: Waverly Press, 1986;1141–200.
- Soergel KH.** Colonic fermentation: metabolic and clinical implications. *The clinical investigator*. 1994;72(10):742-748.
- Spina L, Cavallaro F, Fardowza NI, Lagoussis P, Bona D, Ciscato C, Rigante A, Vecchi M.** Butyric acid: pharmacological aspects and routes of administration. *Digestive and Liver Disease Supplements*. 2007;1(1): 7-11.
- Topping DL, Clifton PM.** Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. *Physiol Rev*. 2001;81:1031–1064.
- Topping DL, Clifton PM.** Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. *Physiol Rev*. 2001;81:1031–1064.
- Treem WR, Ahsan N, Kastoff G, Hyams JS.** Fecal Short-chain fatty acids in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome: in vitro studies of carbohydrate fermentation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1996;23:280–6.
- Van An del JG, Zoutberg GR, Crabbendam PM, Breure AM.** Glucose fermentation by *Clostridium butyricum* grown under a self generated gas atmosphere in chemostat culture. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 1985; 23:21–26.
- Van den Heuvel JC, Verschuren PG, Beeftink HH, de Beer D.** Determination of the critical concentration of inhibitory products in a repeated fed-batch culture. *Biotechnology techniques*. 1992;6(1):33-38.
- van Nuenen MHC, Meyer D, Venema K.** The effect of various inulins and clostridium difficile on the metabolic activity of the human colonic microbiota in vitro. *Microbial Ecology in Health and Disease*. 2003;15:137-44.
- Vand k D, Telgarsky' M,  sturd k E.** Influence of growth factor supplements on butyric acid production from sucrose by *Clostridium butyricum*. *Folia Microbiol*. 1995;40:669–672.
- Vand k D, Zigov  J,  sturd k E, Schlosser  .** Evaluation of solvent and pH for extractive fermentation of butyric acid. *Process Biochemistry*. 1997; 32(3): 245-251.
- Velazquez OC, Lederer HM, Rombeau JL.** Butyrate and the colonocyte. Production, absorption, metabolism, and therapeutic implications. *Adv Exp Med Biol*. 1997;427:123–34.
- Vernia P, Cittadini M, Caprilli R, Torsoli A.** Topical treatment of refractory distal ulcerative colitis with 5-ASA and sodium butyrate. *Digest. Dis. Sci*. 1995;40:305.
- Vernia P.** Butyrate in the treatment of ulcerative colitis. *Digestive and Liver Disease Supplements*. 2007;1(1):27-30.
- Wachtershauser A, Stein J.** Rationale for the luminal provision of butyrate in intestinal diseases. *Eur J Nutr*. 2000;39:164–71.
- Watzl B, Girrback S, Roller M.** Inulin, oligofructose and immunomodulation. *Br J Nutr*. 2005;93(1):49-55.

- Watzl B, Girrbaach S, Roller M.** Inulin, oligofructose and immunomodulation. *Br J Nutr.* 2005;93(1):49-55.
- Widmer J, Fassihi KS, Schlichter SC, Wheeler KS, Crute BE, Nicole KING, Nutile-Mcmenemy N, Noll WW, Daniel S, HA J, Kim KH, Witters LA.** Identification of a second human acetyl-CoA carboxylase gene. *Biochemical Journal.*1996. 316(3); 915-922.
- Willims EA, Coxhead JM, Mathers JC.** Anti-cancer effects of butyrate: use of micro-array technology to investigate mechanisms. *Proc Nutr Soc.* 2003;62:107–15.
- Wollowski I, Rechkemmer G, Pool-Zobel BL.** Protective role of probiotics and prebiotics in colon cancer. *Am J Clin Nutr.* 2001;73:S451–5.
- Wong JM, De Souza R, Kendall CW, Emam A, Jenkins DJ.** Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. *Journal of clinical gastroenterology.* 2006; 40(3): 235-243.
- Wong JM, De Souza R, Kendall CW, Emam A, Jenkins DJ.** Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. *Journal of clinical gastroenterology.* 2006; 40(3):235-243.
- Wu Z, Yang ST.** Extractive fermentation for butyric acid production from glucose by *Clostridium tyrobutyricum*. *Biotechnol. Bioeng.* 2003;82:93–102.
- Zhu Y, Wu Z, Yang ST.** Butyric acid production from acid hydrolysate of corn fiber by *Clostridium tyrobutyricum* in a fibrous bed bioreactor. *Process Biochem.* 2002;38:657–666.
- Zigova J, Šturdik E.** Advances in biotechnological production of butyric acid. *Journal of industrial microbiology & biotechnology.* 2000;24(3):153-160.
- Zoran DL, Barhoumi R, Burghardt RC, Chapkin RS, Lupton JR.** Diet and carcinogen alter luminal butyrate concentration and intracellular pH in isolated rat colonocytes. *Nutri Cancer.* 1997;27(3):222–230.

A Case of *Dispharynx nasuta* (Rudolphi, 1819) In a Long-eared Owl (*Asio otus*)

Mahmut Sinan EREZ^{1*}, Mehmet Fatih BOZKURT², Mustafa Volkan YAPRAKÇI³, Ahmet GÖKSU¹, Esmâ KOZAN¹

¹Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Afyon Kocatepe, AFYONKARAHİSAR

²Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Afyon Kocatepe, AFYONKARAHİSAR

³Department of Surgery, Faculty of Veterinary Medicine, University of Afyon Kocatepe, AFYONKARAHİSAR

*Corresponding author e-mail: mserez@aku.edu.tr

ABSTRACT

Cachexia and dehydration were detected as the clinical sign and sudden death occurred in a long-eared owl which was brought to Veterinary Health Practice and Research Center of Afyon Kocatepe University by officers of National Parks. As a result of necropsy, ingluvitis, proventriculitis, *esophagitis* and the parasites were detected throughout these organs. Furthermore, mild purulent bronchopneumonia, wide hemorrhages in lungs, severe hyperaemia among all tissues and organs were detected in the long-eared owl. After examination of one parasite which was sent to parasitology laboratory, it was diagnosed as *Dispharynx nasuta*. This case is the first report of *Dispharynx nasuta* from an owl in Turkey.

Keywords: *Dispharynx nasuta*, Helminth, Nematode, Owl, Turkey

Kulaklı Orman Baykuşunda (*Asio otus*) *Dispharynx nasuta* (Rudolphi, 1819) Olgusu

ÖZ

Milli Parklar görevlilerince Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezine getirilen kulaklı orman baykuşunda klinik olarak kaşeksi ve dehidrasyon tespit edilmiş ve ani ölüm gerçekleşmiştir. Nekropsi sonucunda ingluvitis, proventriculitis, *esophagitis* ve bu organlarda parazitlere rastlanmıştır. Bunun yanında baykuşta, orta şiddette purulent bronkopnömoni, akciğerlerde geniş kanamalar, tüm doku ve organlarda şiddetli hiperemi tespit edilmiştir. Parazitoloji laboratuvarına gönderilen 1 tane parazitinin incelenmesi neticesinde *Dispharynx nasuta* olduğu teşhis edilmiştir. Bu olgu Türkiye'de baykuşlarda ilk bildirim olmuştur.

Anahtar Kelime: *Dispharynx nasuta*, Helminth, Nematod, Baykuş, Türkiye.

INTRODUCTION

Long-eared owl is recorded as one of ten owl species which belongs to Strigidae and Tytonidae families in Turkey (Kiziroğlu 1989). Long-eared owls usually feed on rodents and isopods (Marti 1976). Owls can be exposed to parasitic infections by eating various infected intermediate hosts which are present in their feed owing to their nutrition habits. *Dispharynx nasuta* is a pathogenic, acuaroid nematode which is found in proventriculus, esophagus and intestines of various avian species (Rickard 1985, Carreno 2008). Male parasites are 7-8.3 mm in length and 230-315 µm in width, female parasites are 9-10.2 mm in length and 360-565 µm in width respectively. Embryonated eggs are excreted with faeces of infected animals. Embryonated eggs release larvae in 4 days after they are taken orally by the pill bugs or sow bugs and larvae become infective in 26 days. Larvae reach sexual maturity 27 days after ingestion of infected intermediate host by avians and start to release embryonated eggs (Norton and Ruff, 2003). Proventricular ulcers, thickening of the proventricular walls and maceration are observed in severe infections (Norton and Ruff, 2003). Multifocal hemorrhagic, extreme mucous and mononuclear inflammatory lesions can occur. Weakness is the remarkable sign of clinically affected animals (Morishita and Schaul, 2007).

Although there is a limited number of reports on owl parasites in the world, the prevalence of *Synhimantus* spp was found to be highest in a study on 6 owl species in Spain (Ferrer et al. 2004). In another study in Spain, 8 nematode species were detected in owls and one of them was *Synhimantus laticeps* (Sanmartin et al. 2004). *Synhimantus affinis* was detected from 4 owl species in Italy (Santoro et al. 2012). There is no information on helminth parasites of owls in Turkey. Seventeen female and eight male nematodes were taken out from proventriculus and identified as *Dispharynx nasuta* as a result of necropsy of a wild male pigeon in Turkey (Gıcık 1997). As a result of faeces examination through domestic chickens in Van region, %2 of the helminths were reported as *Dispharynx nasuta* (Oruç and Biçek, 2009). It was recorded that 1 female 2 male nematodes as *Synhimantus laticeps* which was taken out from gizzard during postmortem examination of a female sparrowhawk in Samsun province (Umur et al. 2010). *Synhimantus laticeps* was detected in 4.77% of the 21 hawks during postmortem examination in Bursa (Tezel et al. 2015). 12 female and 1 male nematodes were collected from gizzard of a kestrel and identified as *Synhimantus laticeps* in Ankara (Aştı et al. 2017).

CASE REPORT

The long-eared owl was brought to Afyon Kocatepe University Veterinary Health Application and Research Center by National parks officers due to cachexia and dehydration and died without responding to the treatment which was applied. One parasite was collected from proventriculus during necropsy and sent to parasitology laboratory for examination. Then samples were taken systematically from tissues and organs and fixed in 10% neutral-buffered formaldehyde solution for histopathological examination. Samples were embedded in paraffin according to avian tissue processing. Sections with a thickness of 4-5 microns were taken with a microtome and stained with Hematoxylin-eosin (HE). Microscopic examination revealed numerous cross-sections of parasites at various diameters in the crop mucosa (4A). Epithelium was found as desquamate into the lumen of epithelial mucosa and crop glands. Disruption of epithelial integrity and microscopic ulcerations were observed in some regions (thick arrow). Crop glands were partly seen as cystic and cystic-dilate in appearance and hyperplasia of mucosal epithelium was observed. Inflammatory cell infiltration was observed around the cystic-dilate crop cysts, and they consisted of mild heterophile, leukocytes and lymphocytes(4B). Parasite sections and embryonated eggs were detected in the epithelial mucosa of proventriculus (4C) as an inside of villus and degenerative changes associated with necrosis were observed in the glands (4D). One parasite which was taken from proventriculus and sent to parasitology laboratory was fixed in 70% boiling alcohol and then examined with a microscope after made pellucid with lactophenol. According to related articles (Gıcık 1997, Zhang et al. 2004), the parasite which has 10.3 mm in length and 3.05 mm in width was identified as a female *Dispharynx nasuta*. Eggs of the parasite were measured 21.08x41.75 µm averagely. Anterior (Figure 2) and posterior (Figure 1) of the parasite and the photos of its eggs (Figure 3) were taken. A most distinguishing feature of *Dispharynx* is the presence of cords starting at the anterior end and continuing towards the back and ending without anastomosis by going forward again near the esophagus. This case is the first report from a long-eared owl in Turkey.

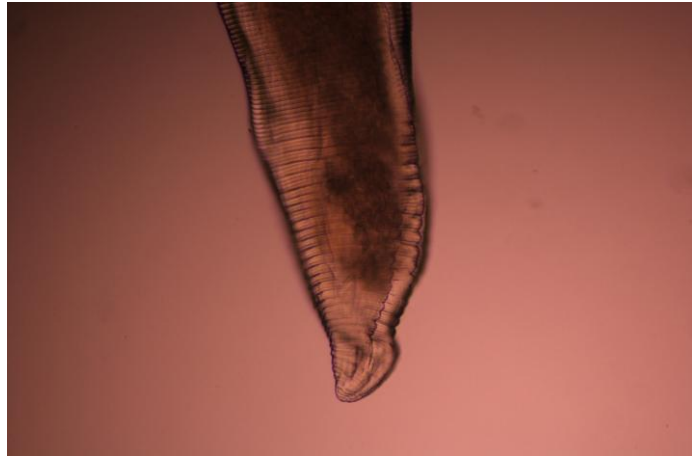


Figure 1. Posterior end of *Dispharynx nasuta* (Female)



Figure 2. Anterior end of *Dispharynx nasuta* (Female)



Figure 3. Eggs of *Dispharynx nasuta*

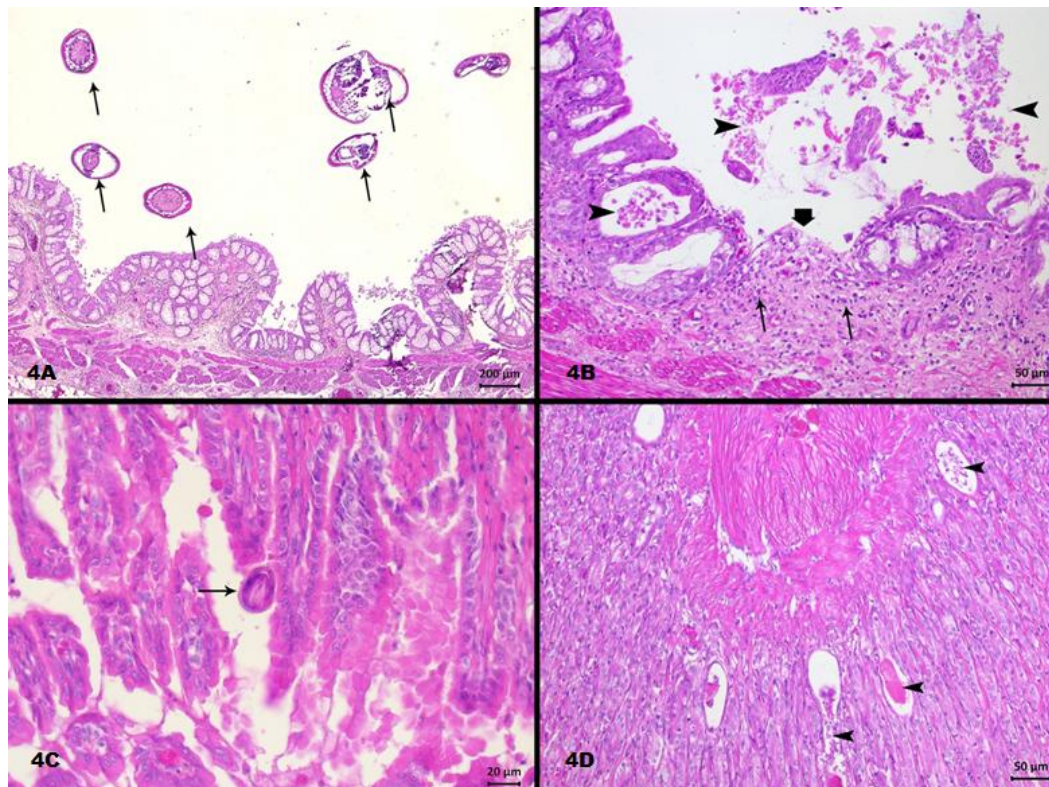


Figure 4A. Cross sections of numerous parasites from the crop (arrows) **4B.** Epithelial desquamation in the mucosa of crop and the lumen of glands (arrow heads), ulcer (thick arrow) and inflammatory cell infiltration which is consisting of heterophile, leukocytes and lymphocytes in the lamina propria. **4C.** *Embryonated* parasite egg in the mucosa of proventriculus (arrow) **4D.** Necrosis and cystic appearance in the proventriculus glands (arrow heads). **HE.** Bar= Actual length.

DISCUSSION AND RESULTS

Some authors reported that *Dispharynx*, a member of Acuariidae family, which contains more than twenty genus, is the subgenus of *Synhimantus* (Zhang et al. 2004). *Dispharynx*, which is more important in hunting birds, causes inflammation and thickening by occurring nodules in the wall of proventriculus (Güralp 1974). In this case, it was determined that the parasite caused significant damage to the digestive system and therefore it was observed to have importance in term of wild birds. According to some authors, *Dispharynx* is the subgenus of *Synhimantus* genus. A most distinguishing feature of *Dispharynx* is that cords starts at the anterior end and continuing towards the back then ending without anastomosis by going forward again near the esophagus. In this case, it was determined that cords were without anastomose. Although pre-digestive system lesions which were seen in this case is not lethal but combined with

respiratory system lesions and cage stress, it is thought that they can play an important role in the death of owl. Considering the feeding patterns of owls, it is observed that owls also eat insects which are intermediate hosts of parasitic infections. There is no clear information about the infection status of these animals because there are not many studies in Turkey to determine the status of parasitic infections in wild birds. This case is the first report of *Dispharynx nasuta* in owls in Turkey.

REFERENCES

- Aştı C, Cengiz G, Sarımehtetoğlu HO. A case of *Synhimantus (Synhimantus) laticeps* (Rudolphi, 1819) Railliet, Henry and Sisoff, 1912 (*Nematoda, Acuariidae*) in common kestrel (*Falco tinnunculus*). Ankara Üniv Vet Fak Derg. 2017; 64: 65-68.
- Carreno RA. *Dispharynx*, *Echinuria* and *Streptocara*. In: *Parasitic Diseases of Wild Birds*. Eds. Atkinson CT, Thomas

- NJ, Hunter B.** Blackwell Publishing Ltd., Ames, Iowa. 2008; pp. 326-342.
- Ferrer D, Molina R, Castella J, Kinsella JM.** Parasitic helminths in the digestive tract of six species of owls (Strigiformes) in Spain. *The Veterinary Journal.* 2004; 167: 181-185.
- Gıcık Y.** Yabani bir güvercinde (*Columba livia*) *Dispharynx nasuta* (Rudolphi, 1819) olgusu. *Ankara Üniv Vet Fak Derg.* 1997; 44(1-3): 93-95.
- Güralp N.** Helmintoloji. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları* 307. 1974; pp. 515-516.
- Kızıroğlu İ.** Türkiye Kuşları, *The Birds of Turkey*, OGM Yay., Gazi, Ankara. 1989; pp. 314.
- Marti CD.** A review of prey selection by the Long-eared owl. *Condor* 1974; 78: 331.
- Morishita TY, Schaul JC.** Parasites of Birds. In: *Flynn's Parasites of Laboratory Animals*. Ed: Baker D.G. Second Edition American College of Laboratory Animal Medicine. Blackwell Publishing. 2007; pp. 249
- Norton, R.A. and Ruff, M.D.** Nematodes and acanthocephalans. In: **Saif, Y.M., Barnes, H.J., Glisson, J.R., Fadly, A.M., McDougald, L.R., and Swayne, D.E.** (eds.). *Diseases of Poultry*. 11th ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa. 2003; pp. 931-961.
- Rickard LG.** Proventricular lesions associated with natural and experimental infections of *Dispharynx nasuta* (Nematoda: Acuariidae). *Can J Zool.* 1985; 63: 2663-2668.
- Oruç Ö, Biçek K.** Van Yöresi Tavuklarında Paraziter Fauna Tespiti. *Türkiye Parazitoloji Dergisi.* 2009; 33 (2): 162-164.
- Sanmartin ML, Alvarez F, Barreiro G, Leiro J.** Helminth fauna of Falconiform and Strigiform birds of prey in Galicia, Northwest Spain. *Parasitol Res.* 2004; 92: 255-263.
- Santoro M, Mattiucci S, Nascetti G, Kinsella JM, Prisco FD, Troisi S, D'Alessio N, Veneziano V, Aznar FJ.** Helminth Communities of Owls (Strigiformes) Indicate Strong Biological and Ecological Differences from Birds of Prey (Accipitriformes and Falconiformes) in Southern Italy. *PLoS ONE.* 2012; 7(12): e53375.
- Tezel M, Girişgin AO, Birlik S, Yıldırımhan HS, Şenlik B.** Helminths of the digestive tract in *Buteo buteo* (Falconiformes: Falconidae) in Bursa Province of Northwest Turkey. *Turk J Zool.* 2015; 39: 323-327.
- Umur Ş, Beyhan YE, Pekmezci GZ, Açıcı M, Gürler AT.** First record of *Synbimantus (S.) laticeps* (Rudolphi, 1819) Railliet, Henry et Sisoff, 1912 (Nematoda, Acuariidae) in *Accipiter nisus* (Aves, Accipitridae) in Turkey. *Ankara Üniv Vet Fak Derg.* 2010; 57: 139-142.
- Zhang L, Brooks DR, Causey D.** Two species of *Synbimantus (Dispharynx)* Railliet, Henry and Sisoff, 1912 (Nematoda: Acuarioidea: Acuariidae), in passerine birds from the area de conservacion guanacaste, Costa Rica. *J Parasitol.* 2004; 90(5): 1133-1138.

Fatal Outcome of Retained Surgical Sponge (Gauzoma) in a Dog

Ceren DINLER^{1*}, G. Emek TUNA¹, Rahime YAYGINGUL², S. Serap BIRINCIOGLU³,
Huseyin VOYVODA¹

¹ Department of Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Adnan Menderes, Aydın/TURKEY

² Department of Surgery, Faculty of Veterinary Medicine, University of Adnan Menderes, Aydın/TURKEY

*Corresponding author e-mail: ceren.dinler@adu.edu.tr

ABSTRACT

In this report, we present a case of gauzoma after ovariohysterectomy in a dog. A 2.5-year-old spayed female crossbred dog was referred to the Veterinary Teaching Hospital, Adnan Menderes University, with a seven-day history of abdominal pain, abdominal distension, vomiting, inappetence, weakness, and soft foul-smelling stool. Based on anamnesis and clinical symptoms, an abdominal mass or acute pancreatitis was suspected, radiographic and ultrasonographic findings strengthened the suspicion of an abdominal mass. Symptomatic and supportive treatment for three days did not provide any improvement. Gauzoma and localised peritonitis were finally diagnosed by the exploratory laparotomy. Unfortunately, the dog died during laparotomy. The owner noted that the dog had been ovariohysterectomized in a private clinic 1.5 years ago. In conclusion, retained surgical sponge should be considered in the differential diagnosis of bitches with abnormal mass together with abdominal pain and distension which had previously been spayed.

Keywords: dog, retained surgical sponge, post-ovariohysterectomy complication.

Bir Köpekte Unutulmuş Cerrahi Spançın (Gauzoma) Ölümcül Sonucu

ÖZ

Bu raporda bir köpekte overiyohistektomi sonrası unutulmuş cerrahi spanç (gauzoma) olgusu sunuldu. Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi'ne, 2,5 yaşlı kısırlaştırılmış, melez ırk dişi köpek bir haftadan beri devam eden abdominal ağrı, abdominal distensiyon, kusma, iştahsızlık, güçsüzlük ve yumuşak pis kokulu dışkılama şikayeti ile getirildi. Anamnez ve klinik semptomlar temelinde abdominal bir kitle veya akut pankreatitiden şüphelenildi, radyolojik ve ultrasonografik bulgular abdominal kitle şüphesini güçlendirdi. Üç günlük semptomatik ve destekleyici tedavi, hastada herhangi bir iyileşme sağlamadı. Sonrasında deneysel laparotomi ile gauzoma ve lokal peritonitis tanısı kesinleştirildi. Malasef köpek operasyon sırasında ex oldu. Hasta sahibi, köpeğe 1,5 yıl önce özel bir klinikte overiyohistektomi yapıldığını bildirdi. Sonuç olarak, önceden overiyohistektomi uygulanmış, abdominal ağrı ve distensiyonun eşlik ettiği anormal kitleli dişi köpeklerde ayırıcı tanıda unutulmuş cerrahi spanç dikkate alınmalıdır.

Anahtar Kelimeler: köpek, unutulmuş cerrahi spanç, post-overiyohistektomi komplikasyonu

To cite this article: *Dinler C. Tuna EG. Yaygingul R. Birincioglu SS. Voyvoda H Fatal Outcome of Retained Surgical Sponge (Gauzoma) in a Dog. Kocatepe Vet J. (2017) 10(3): 231-234.*

INTRODUCTION

Retained surgical sponge (RSS), also called gossypiboma, textiloma or gauzoma, refers to a mass of cotton matrix retained in the body after an operation. It is an uncommon but potentially fatal complication in human surgery, and few reports about this complication in the veterinary literature have been provided. Although the actual incidence of this problem is unknown due to medicolegal implications, it has been reported to be one in 1000 to 1500 for abdominal surgeries in humans (Sarda et al. 2007, Deschamps and Roux 2009, Forster et al. 2011). The risk of RSS might be less in dogs than in humans because of the smaller abdominal cavity in size and shorter, less complicated surgeries (Merlo and Lamb 2000). In this content, summing up the year 2012, 40 cases of RSS in dogs have been reported in literature (Day et al. 2012). On the other hand, the incidence may be higher in veterinary medicine, because surgical procedures are less standardised (Deschamps and Roux 2009).

Although rarely reported, RSS represents a crucial problem because of life-threatening dimensions and severe medicolegal implications. Retained sponges after laparotomy may cause a broad spectrum of clinical symptoms and present a difficult diagnostic problem. Therefore, we report a case of RSS in a dog to demonstrate this infrequent but important complication of an abdominal surgery.

Case Presentation

A 2.5-year-old spayed female crossbred dog was referred to the Veterinary Teaching Hospital, Adnan Menderes University, with a seven-day history of severe abdominal pain, febris intermittent, vomiting, anorexia, weakness, and soft foul-smelling stool. One week before the presentation, attempt to treat the dog for exocrine pancreatic insufficiency in a private clinic was unsuccessful. On referral, physical examination revealed that the dog is alert and responsive. She had a rectal temperature of 39.2 °C, painful cranial abdomen, and suspicion of abdominal mass by palpation. Complete blood count and serum biochemical analysis were within normal limits. Based on history and the clinical and radiographical findings (Figure 1), acute pancreatitis and/or an abdominal tumour were suspected and symptomatic and supportive treatments were carried out for three days. The control physical and radiographical examination showed no improvement in the findings of the dog. Abdominal ultrasonography also exhibited a round mass with fluid echogenicity between intestines (Figure 2). The patient with

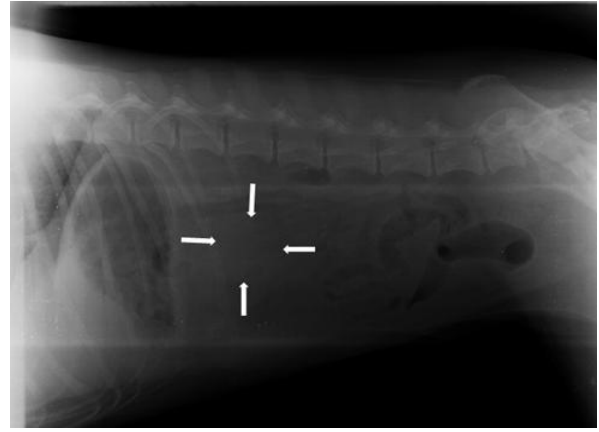


Figure 1: Radiographic image of intra-abdominal mass (gauzoma)

Resim 1: Abdominal kitlenin (gauzoma) radyografik görüntüsü

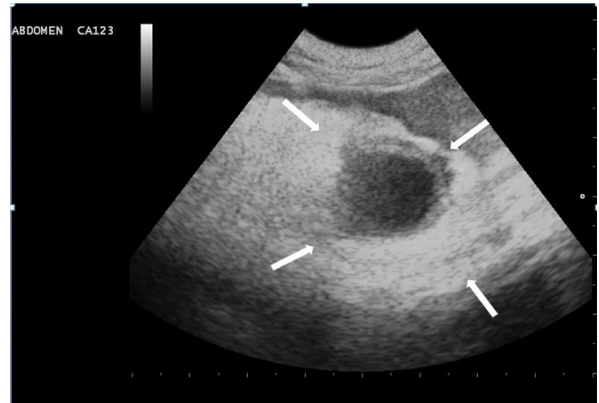


Figure 2: Ultrasonographic image of intraabdominal mass (gauzoma)

Resim 2: Abdominal kitlenin (gauzoma) ultrasonografik görüntüsü

suspected intraabdominal mass was referred to exploratory laparotomy.

Median laparotomy was performed under inhalation anaesthesia. During incision of the linea alba, a small amount of serofibrinous abdominal fluid was seen. Hyperaemia was observed on the mesenteries and serosa of the intestines. Adhesions that particularly intense between the jejunum and the caecum were determined. During the separation of adhesions by blunt dissection, a formation with the oval shape and 6 cm diameter which was well-circumscribed was noticed between the jejunum and the caecum. When the cross-section of the formation was examined, the gauze fragments and purulent liquid were identified (Figure 3). A gauzoma and localised peritonitis were finally diagnosed. Unfortunately, the dog died in the course of exploratory laparotomy.

Histopathology revealed the foreign body reaction related to the retained gauze sponge. The mesenteric mass was surrounded by thick fibrous hyalinised capsule from the outside.

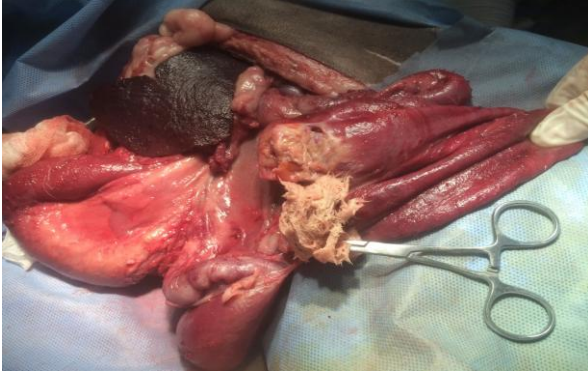


Figure 3: Intraoperative image of abdominal mass (gauzoma): The gauze fragments and purulent liquid in cross-section of the mass.

Resim 3: Abdominal kitlenin operasyon sırasındaki görüntüsü (gauzoma): Kitlenin kesit yüzünde görülen gazlı bez parçaları ve purulent içerik.

Plenty of hemosiderin-loaded macrophages, leukocyte infiltration and foreign body giant cells associated with foreign body granulation tissue were observed on the inner wall of the pouch. In the same areas, fibrils which appear to be related to gauze were determined as freelance or in foreign body giant cells (Figure 4).

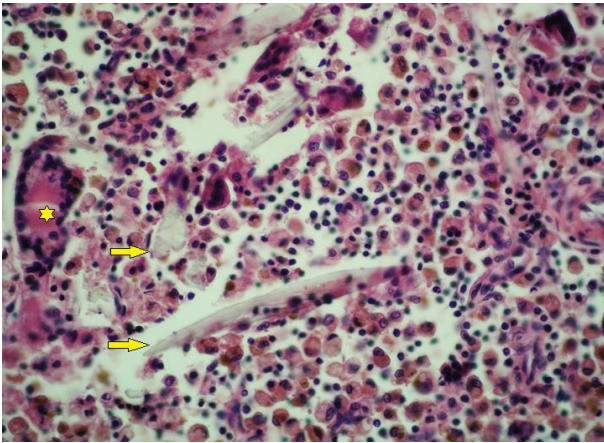


Figure 4: Histopathology of intra-abdominal mass (gauzoma), foreign body granuloma: Intense lymphocyte and macrophage infiltration, refractile sponge material (arrows), foreign body giant cell (asterisk). H.E. x 200.

Resim 4: Abdominal kitlenin histopatolojik kesiti, yabancı cisim granülasyon dokusu: Yoğun makrofaj ve lenfosit infiltrasyonu, gazlı bez parçaları (oklar), yabancı cisim dev hücresi (yıldız). H.E. x 200.

DISCUSSION AND CONCLUSION

Retained surgical sponges following intra-abdominal surgery represent a continuing problem in both humans and animals. Intra-abdominal RSS made of cellulose fibers may incite an inflammatory reaction due to their lack of inertness and inability to disintegrate, resulting in either an aseptic granulomatous encapsulation or in exudative response of surrounding tissue leading to abscess

formation, sepsis and super infection (Forster et al. 2011). In contrast to humans, RSS in dogs is associated with the infective, exudative form of foreign body granuloma, resulting in clinical signs that appear within months after surgery (Tsioli et al. 2004, Forster et al. 2011). The case presented here was evaluated as exudative form of foreign body granuloma on the basis of laparotomy and histopathology. The elapsed time between surgery and diagnosis ranges from 4 days to 38 months (Merlo and Lamb 2000, Forster et al. 2011). In this case, the gauzoma was diagnosed 1.5 years after ovariectomy.

Considering the reported 40 RSS cases in dogs (Day et al. 2012), sponges were most commonly left in the abdomen (81%) and most commonly following ovariectomy (57%). Also in the current report, the sponge was left in the abdomen and likely to have been retained at ovariectomy.

As in human cases, the clinical signs associated with an RSS are inconsistent, nonspecific, often subjective, and sometimes even non-existent; such conditions make the diagnosis of intra-abdominal RSS difficult in dogs (Deschamps and Roux 2009, Day et al. 2012). The most common clinical signs described in dogs with intra-abdominal RSS include fistule formation with the skin, a palpable mass, abdominal pain, vomiting, weight loss, lethargy, diarrhoea, abdominal distension, fever and anorexia (Deschamps and Roux 2009, Day et al. 2012). The clinical signs of this case were consistent with those reported in 40 dogs with RSS, except for fistule formation with the skin. Conversely, haematological and serum biochemical changes described in dogs with intra-abdominal RSS (Merlo and Lamb 2000, Tsioli et al. 2004, Day et al. 2012) were not observed in our case. Similar to the clinical signs, the imaging findings does not lead to the definitive diagnosis of intra-abdominal RSS because of a lack of knowledge of typical imaging view (Tsioli et al. 2004, Forster et al. 2011). It is noted in most veterinary and human cases, with only approximately 22% of veterinary and 30 to 50% of human patients being correctly diagnosed before exploratory surgery (Day et al. 2012). Also in our case, intra-abdominal mass, namely a neoplasia or an inflammatory lesion, was suspected by the clinical and imaging findings, and exploratory laparotomy provided the correct diagnosis.

Prognosis in dogs with intra-abdominal RSS depends on the surgical management, organ affected, complications and patient debilitation (Day et al. 2012). A combination of the factors that affect prognosis may be responsible for the death of the dog presented during laparotomy.

In conclusion, when a history of previous ovariohysterectomy or other intra-abdominal operations are presented, gauzoma should be considered in the differential diagnosis of a bitch with an intra-abdominal mass. Surgeons should always make best efforts to prevent gauzoma by being very careful about risk factors leading to this disorder.

REFERENCES

- Day JL, Pechman RD, Bahr RJ.** Migration of a retained surgical swab into the jejunum in a dog. *JSAP*. 2012; 53(12): 705-708.
- Deschamps JY, Roux FA.** Extravesical textiloma (gossypiboma) mimicking a bladder tumor in a dog. *JAAHA*. 2009; 45(2): 89-92.
- Forster K, Anderson D, Yool DA, Wright C, Burrow R.** Retained surgical swabs in 13 dogs. *Vet Rec Case Reports*. 2011; 1(1): ed4396.
- Merlo M, Lamb CR.** Radiographic and ultrasonographic features of retained surgical sponge in eight dogs. *Vet Radiol Ultrasoun*. 2000; 41(3): 279-283.
- Sarda AK, Pandey D, Neogi S, Dhir U.** Postoperative complications due to a retained surgical sponge. *Singapore Med J*. 2007; 48 (6): e160-164.
- Tsioli V, Papazoglou LG, Patsikas MN, Kazakos GM.** Retained surgical sponge. *Comp Cont Educ Pract -North American Edition*. 2004; 26(8): 634-645.

Instruction for Authors

Kocatepe Veterinary Journal (KVJ) has the policy with One Medicine One Health. Research article, reviews, brief communication and case reports, letters to editor and book reviews are also welcome for consideration to publish articles of high scientific and ethical standards.

The journal is published four times a year. The publication of the text and figures is **free** of charge.

Acceptance of papers for the KVJ is undertaken by Editors. Editorial Board members adjudicate in the case of conflicting or adverse reports.

Manuscripts are accepted for consideration on the understanding that they are for publication solely in KVJ and that they neither have been published nor are under consideration for publication elsewhere. Submission also implies that all authors have approved the paper for release and are in agreement with its content. Upon acceptance of the article by the journal, the author(s) will be asked to transfer the copyright of the article to the Publisher.

Each author accepts all ethical responsibility of the article and all authors agree with the content of the study. After article is checked by **Professional Plagiarism Prevention** program, article will be sent to authors.

Articles are checked by iThenticate® program, when plagiarism or self-plagiarism are detected, they will not be evaluated for publication.

If animals are used in the studies, study should be approved by an Ethical Committee, Name of Ethical Committee and Approved Number should be mentioned in the Material and Method section. Editor may reject directly the article, if animal is exposed to stressful or painful conditions.

Authors accept ethical rules when article is sent for publication. Author(s) should send Copyright Transfer Agreement, after acceptance of article.

Each author accepts all ethical responsibility of the article and all authors agree with the content of the study.

Article should be written using Garamond, font of 11 point, with 1.5 line spacing, margins of the A4 paper should be 2.5 cm from all edges (Word97-2010.doc). Abbreviations should be written in SI. Research article submitted to Kocatepe Veterinary Journal should be divided into the following sections:

Title page (Abstract, Key words without authors name and address), **Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusions, References, Tables, Graphics, Figures.**

Title page: Papers should be headed with the full title, the initial letters of name and surnames of the authors, the name and address of the institution where the work is carried out. The telephone number, fax number and e-mail address of the corresponding author should also be provided. The title should be short, specific and informative.

Abstract Should be no more than 200 words, outlining in a single paragraph.

Keywords, 5 keywords that describe the crucial points of the paper should be provided. Keywords should be chosen from Turkey Science Term (www.bilimterimleri.com)

Introduction, an updated literature related to paper and aim(s) of the study should be clearly given in this section.

Materials and methods, a clear account of materials used and methods employed should be given and it should be applicable/repeatable by other researchers.

Results, as concise as possible. Text, tables and figures illustrating the same data should be limited and succinctly outline the pertinent outcomes of the study.

Discussion: Results of the study should be discussed with directly relevant references. This section may also be divided into subsections.

Conclusions: This section should state clearly the main conclusions of the research. Results should not be repeated.

Acknowledgements, it is advised to acknowledge persons or institutions directly or indirectly involved in the study.

References

References in the text should be made as follows: **Kara (2012)** described. / . was reported (**Zemheri 2015, Eryavuz and Yeni, Eryavuz et al. 2015**). List of references should be given alphabetically in the reference list. Different publications having the same author(s) of same year should be written as **2011a, 2011b**. Web address should be referenced as **anonim** for example **Anonim 2015**. Only official web pages should be used. Author name(s) and date should be written bold. The reference list at the end of the paper should be written as below.

Journal:

Ince S, Kucukkurt I, Cigerci IH, Fidan AF, Eryavuz A. The effects of dietary boric acid and borax supplementation on lipid peroxidation, antioxidant activity, and DNA damage in rats. *J Trace Elem Med Biol.* 2010; 24(3):161-164.

Book section:

Juneja R, Koide SS. *Molecular Biology of Reproduction*, In: *Reproduction in Farm Animals*, Ed; HafezB, Hafez ESE, 7th Ed., LippincottWilliams and Wilkins, Philadelphia, USA. 2000; pp. 354-361.

Web page:

Anonymous. http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?tb_id=46&cust_id=13;Accessien date: 02.01.2012.

Thesis:

Yeni D. Some andrological parameters and biochemical properties in relation to season in rams. PhD thesis, Afyon Kocatepe University Health Science Institute, Afyonkarahisar, 2010.

Tables: Tables should be presented in a separate page at the end of manuscript.

Graphics: Figures should be presented in a separate page at the end of manuscript.

Figures : Figures should be presented in a separate page at the end of manuscript. Figures should be 80 or 160 mm, minimum 300 dpi.

Titles of tables, graphics and figures should be both Turkish and English.

Brief Communications: Brief communications should be concise but complete description of a limited investigation, which will not be included in a later publication. They should not exceed 1600 words. They should bear no more than two tables or figures. An ABSTRACT should be given but no other sections. Typescripts should be clearly marked Brief Communication.

Review Articles: Review articles related to all medical topics are welcome for publication. They should give an update on recent advances in a particular field and be targeted at research veterinarians or clinicians who are not necessarily working in the same field. The length should not exceed 4500 words. It should have a precise abstract. Author of review should have at least two citations. For each issue maximum 2 reviews are published.

Case Reports: Reports of SINGLE or small numbers of cases will be considered for publication in KVJ if the case(s) are particularly unusual/rare or the report contributes materially to the literature. A case report should not exceed 1500 words and must comprise a Summary (maximum 150 words), Introduction, Case History and Discussion. The report should accomplish one of the followings:

- To be a substantially novel presentation
- To be a technique or treatment that would substantially alter management and prognosis of the described condition
- The first clinical report or first case(s) of diseases in a particular location where epidemiology is an important factor
- To exemplify best practice in medical science.

Letters to The Editor: Letters describing case reports or original material may be published in the KVJ and will be peer-reviewed prior to publication. Letters making criticisms on recently published papers in the KVJ will also be considered and the corresponding authors of the original paper will be invited to respond accordingly.

All articles sent to KVJ (Kocatepe Veterinary Journal) ONLINE submission only.

During submission documents which are listed below, have to install to the system;

1. **Title Page:** Author and institution names
2. **Main text:** Author and institution names should NOT be. Tables(s), graphic(s) and figure(s) etc. Should be on the last page of article, also title of them both in Turkish and English.
3. **Article addition:** Table(s), graphic(s) and figure(s) should have been installed to the system separately.
4. **Author Approval Form (Cover Letter):** All authors need to sign it and install to the system. Signatures should be wet signatures and send to the Editorial Board of Kocatepe Veterinary Journal.
5. **Copyright:** All authors need to sign it and install to the system. Signatures should be wet signatures and send to the Editorial Board of Kocatepe Veterinary Journal.